

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DOS ALIMENTOS**

**CULTURA *STARTER* PRODUZIDA EM MEIO DE
CULTURA DE PLASMA SUÍNO E ANTIOXIDANTE
NATURAL NA ELABORAÇÃO DO SALAME**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Paulo Cezar Bastianello Campagnol

Santa Maria, RS, Brasil

2007

**CULTURA *STARTER* PRODUZIDA EM MEIO DE CULTURA
DE PLASMA SUÍNO E ANTIOXIDANTE NATURAL NA
ELABORAÇÃO DO SALAME**

por

Paulo Cezar Bastianello Campagnol

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Leadir Lucy Martins Fries

Santa Maria, RS, Brasil

2007

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**CULTURA *STARTER* PRODUZIDA EM MEIO DE CULTURA DE
PLASMA SUÍNO E ANTIOXIDANTE NATURAL NA ELABORAÇÃO
DO SALAME**

elaborada por
Paulo Cezar Bastianello Campagnol

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos

COMISSÃO EXAMINADORA:

Leadir Lucy Martins Fries, PhD.
(Presidente/Orientadora)

Janio Moraes Santurio, Dr. (UFSM)

Ernesto Hashime Kubota, Dr. (UFSM)

Santa Maria, 24 de janeiro de 2007.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Santa Maria e ao Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos agradeço pela oportunidade da realização deste trabalho.

Ao CNPq agradeço pelo auxílio financeiro.

À Prof.^a PhD Leadir Lucy Martins Fries, agradeço pela orientação, confiança, estímulo, e sobretudo, agradeço a oportunidade de poder trabalhar e aprender com ela.

Ao Prof. Dr. Nelcindo Nascimento Terra, agradeço pela inestimável colaboração no desenvolvimento deste trabalho e pelos ensinamentos transmitidos ao longo desses anos.

À Liana Inês Guidolin Milani, agradeço pela ajuda sempre demonstrada no Laboratório de Microbiologia de Alimentos.

Aos meus colegas Edson Toneto e Ariane Schimidt Furtado, agradeço pelo companheirismo e ajuda na realização deste trabalho.

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

À minha família, agradeço pelo apoio.

Agradeço a todos os professores e funcionários do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos
Universidade Federal de Santa Maria

CULTURA *STARTER* PRODUZIDA EM MEIO DE CULTURA DE PLASMA SUÍNO E ANTIOXIDANTE NATURAL NA ELABORAÇÃO DO SALAME

AUTOR: PAULO CEZAR BASTIANELLO CAMPAGNOL

ORIENTADORA: LEADIR LUCY MARTINS FRIES

CO-ORIENTADOR: NELCINDO NASCIMENTO TERRA

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 24 de janeiro de 2007.

Este trabalho teve por objetivo produzir e aplicar em salame uma cultura *starter* ácido láctica utilizando um meio de cultura de plasma suíno e avaliar o efeito de dois níveis (0,5% e 1%) de extrato hidro-alcoólico de marcela (*Achyrocline satureioides*) na segurança e qualidade de salames. No primeiro experimento, o microrganismo *Lactobacillus plantarum* foi fermentado em um meio de cultura de plasma suíno, com controle de pH, durante 36 horas, sob agitação contínua a 100 rpm e temperatura de 37 ($\pm 0,1^{\circ}\text{C}$). Após entrar na fase estacionária a cultura foi liofilizada e aplicada em salame, avaliando sua influência nas características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais. Para efeitos comparativos, foram elaborados tratamentos sem adição de cultura *starter* e com adição de uma cultura comercial. No segundo experimento, salames foram elaborados com 0,5% e 1% de extrato hidro-alcoólico de marcela e sem extrato, considerados como controle. Os parâmetros de pH, atividade de água, cor e perda de peso foram avaliados durante a fabricação dos salames. Durante o armazenamento os valores de TBARS foram determinados e foi verificada a aceitação sensorial. O microrganismo *Lactobacillus plantarum* teve um crescimento máximo de 9,82 Log UFC.mL⁻¹, após 30 horas de fermentação e apresentou 90,05% de sobrevivência a liofilização. Os salames elaborados com a cultura *starter* produzida apresentaram uma queda de pH significativamente mais rápida e uma menor atividade de água que os demais tratamentos. Além disso, o microrganismo *Lactobacillus plantarum* significativamente melhorou o sabor dos salames. A adição de extrato de marcela diminuiu ($p < 0,05$) os valores de TBARS durante o armazenamento dos salames, comparado ao controle. O tratamento com 1% de extrato de marcela mostrou uma maior estabilidade lipídica do que aquele com 0,5%, porém apresentou uma diminuição ($p < 0,05$) na aceitação sensorial. Os dois níveis de extrato de marcela não influenciaram significativamente os parâmetros de pH, atividade de água, cor e perda de peso. Portanto, este estudo indicou que o meio de cultura de plasma suíno é uma alternativa na produção comercial de bactérias ácido lácticas e que a cultura *starter* produzida proporcionou salames de maior segurança microbiológica e melhor aceitação sensorial. O extrato hidro-alcoólico de marcela diminuiu a oxidação lipídica e a concentração de 0,5% não alterou as características sensoriais, podendo, portanto, ser utilizada na elaboração de salames mais seguros aos consumidores.

Palavras-chave: salame; cultura *starter*; plasma suíno; marcela; oxidação lipídica.

ABSTRACT

Master Dissertation
Pos-Graduate Course of Food Science and Technology
Federal University of Santa Maria, RS, Brazil

STARTER CULTURE PRODUCED IN PORK PLASMA CULTURE MEDIUM AND NATURAL ANTIOXIDANT IN THE DRY FERMENTED SAUSAGE ELABORATION

AUTHOR: PAULO CEZAR BASTIANELLO CAMPAGNOL

ADVISER: LEADIR LUCY MARTINS FRIES

CO-ADVISER: NELCINDO NASCIMENTO TERRA

Place and Date of Defense: Santa Maria, January 24th, 2007.

This work aimed to produce and to apply in dry fermented sausage a lactic acid *starter* culture using a pork plasma culture medium and to evaluate the effect of two levels (0.5% and 1%) of hydroalcoholic extract of marcela (*Achyrocline satureioides*) in the security and quality of dry fermented sausages. In the first experiment, the microorganism *Lactobacillus plantarum* was fermented with control of pH, during 36 hours, under continuous agitation of 100 rpm, at a temperature of 37 ($\pm 0.1^{\circ}\text{C}$). After entering in the stationary phase the culture was lyophilized and applied in dry fermented sausage, evaluating its influence in the microbiological, physico-chemical and sensorial characteristics. For comparative effects, were elaborated treatments without addition of *starter* culture and with addition of a commercial culture. In the second experiment, dry fermented sausages had been elaborated with 0.5% and 1% of hydroalcoholic extract of marcela and without extract, considered as control. The parameters of pH, water activity, colour and weight loss were evaluated during the manufacture of the dry fermented sausages. During the storage the TBARS values were determined and verified the sensorial acceptance. The microorganism *Lactobacillus plantarum* had a maximum growth of 9.82 Log UFC.mL⁻¹, after 30 hours of fermentation and it presented 90.05% of survival to the lyophilization. The dry fermented sausages elaborated with the *starter* culture produced had presented a decrease on pH significantly faster and a lower water activity than the others treatments. Moreover, the microorganism *Lactobacillus plantarum* improved significantly the flavor of the dry fermented sausages. The marcela extract addition decreased ($p < 0.05$) the TBARS values during the storage of the dry fermented sausages, compared with the control. The treatment with 1% of marcela extract showed a bigger lipid stability than that with 0.5%, however it presented a reduction ($p < 0.05$) in the sensorial acceptance. The two marcela extract levels had not influenced the parameters of pH, water activity, colour and weight loss. Therefore, this study indicated that the pork plasma culture medium is an alternative in the commercial production of lactic acid bacteria and that the *starter* culture produced provided a dry fermented sausage with greater microbiological security and better sensorial acceptance. The hydroalcoholic extract of marcela decreased the lipid oxidation and the concentration of 0.5% did not modify the sensorial characteristics, being able, therefore, to be used in the elaboration of safer dry fermented sausages to the consumers.

Keywords: dry fermented sausage; *starter* culture; pork plasma; marcela; lipid oxidation.

SUMÁRIO

RESUMO.....	5
ABSTRACT.....	6
1 INTRODUÇÃO.....	8
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	10
2.1 Embutidos fermentados.....	10
2.2 Salame.....	11
2.3 Elaboração do salame.....	11
2.4 Ingredientes da formulação e suas funções.....	14
2.5 Culturas <i>starters</i>	15
2.6 Meios de cultura utilizados no cultivo de bactérias ácido lácticas.....	17
2.7 Vida-de-prateleira do salame – estabilidade oxidativa.....	18
2.8 Compostos antioxidantes.....	20
2.9 Antioxidantes naturais.....	20
3 ARTIGOS CIENTÍFICOS.....	23
3.1 ARTIGO 1.....	23
SALAME ELABORADO COM <i>Lactobacillus plantarum</i> FERMENTADO EM MEIO DE CULTURA DE PLASMA SUÍNO.....	23
3.2 ARTIGO 2.....	42
O EFEITO DO EXTRATO DE MARCELA (<i>Achyrocline satureioides</i>) NA OXIDAÇÃO LIPÍDICA DE SALAMES.....	42
4 DISCUSSÃO.....	56
5 CONCLUSÃO.....	63
REFERÊNCIAS.....	64

1 INTRODUÇÃO

A fermentação é uma das mais antigas tecnologias utilizadas para conservação dos alimentos. Esta tecnologia de produção com suas múltiplas variações originou os diferentes tipos de salames, produtos nobres da indústria cárnea.

Inicialmente a fermentação era o resultado da ação da flora contaminante da carne sobre os açúcares da formulação. A busca pela diminuição no tempo de fabricação e por produtos com qualidade uniforme fez surgir a partir de 1961, culturas puras de microrganismos úteis, denominadas de culturas *starters* (TERRA, 1998). Atualmente o uso de culturas *starters* foi totalmente incorporado à produção de salames tendo em vista a sua conotação junto à segurança alimentar e a melhoria das características sensoriais dos produtos (SCHMIDT & BERGER, 1998; MOTTRAM, 1998).

No Brasil a produção de salames compõe uma fatia significativa do mercado de produtos cárneos, sendo produzidos diariamente cerca de 110 a 120 toneladas (TERRA, 2003), com a importação integral das culturas *starters* utilizadas, a partir da Dinamarca, França e Alemanha. A utilização dessas culturas importadas além de levar ao esquecimento do sabor brasileiro, contribui para o desequilíbrio da balança comercial. A produção de uma cultura *starter* obtida a partir de microrganismos isolados de salames artesanais fabricados em nosso país seria uma alternativa na redução de custos de produção, bem como uma forma de produzir salames com um sabor e aroma genuinamente brasileiros.

Por outro lado, os produtos cárneos normalmente possuem grande teor de gordura, apresentando alta sensibilidade ao processo de oxidação lipídica (RESURRECCION & REYNOLDS, 1990). Além de levar a efeitos adversos às características de qualidade dos produtos cárneos, tais como cor, sabor e aroma, a oxidação lipídica provoca uma diminuição no valor nutritivo do produto devido a diminuição do conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados, cujo efeito benéfico na saúde dos consumidores é bem documentado (ALEXANDER, 1998; BERRA et al., 2005; ROSE & CONNOLLY, 1999). Além disso, alguns produtos intermediários e finais da reação de oxidação são potencialmente tóxicos à saúde humana, podendo

causar mudanças patológicas na membrana mucosa do trato gastrointestinal, inibir atividades de enzimas e aumentar o conteúdo de colesterol e peróxidos no soro sanguíneo, desencadeando o processo de aterosclerose. Também foi demonstrado que podem possuir atividade carcinogênica (AMES, 1983; FRANKEL, 1991; GARDNER, 1979).

Considerando a possibilidade das influências indesejáveis dos lipídeos oxidados no organismo humano, é de suma importância minimizar o conteúdo de produtos da oxidação lipídica nos alimentos. Os antioxidantes apresentam-se como alternativa para prevenir a deterioração oxidativa dos alimentos e minimizar os danos oxidativos nos seres vivos. Como o emprego de antioxidantes sintéticos na indústria de alimentos tem sido alvo de questionamentos quanto a sua inocuidade, as pesquisas encontram-se voltadas para a busca de compostos naturais que exibam esta propriedade funcional (MELO & GUERRA, 2002).

Várias pesquisas estão sendo realizadas na tentativa de se descobrir novas fontes de antioxidantes naturais para utilização em carne e em produtos cárneos (CHEAH & HASIM, 2000; MCCARTHY et al., 2001; KARPINSKA et al., 2001; KANATT et al., 2004; KANATT et al., 2005). A *Achyrocline satureioides*, popularmente conhecida como marcela, é uma planta medicinal usada na Argentina, Uruguai, Paraguai e Brasil por suas propriedades antiespasmódica, hepatoprotetora e colerética. O alto conteúdo de compostos polifenólicos, na maioria flavonóides, e de diferentes ácidos fenólicos como o cafeico, clorogênico e isoclorogênico (SIMÕES et al., 1988; FERRARO et al., 1981), sugere que esta planta pode possuir potentes efeitos antioxidantes. Existem alguns relatos das propriedades antioxidantes da marcela (GUGLIUCCI & MENINI, 2002; DESMARCHELIER et al., 1998), mas a sua aplicação em produtos cárneos não tem sido estudada.

Baseado nisto, os objetivos do presente trabalho foram:

- ✓ elaborar um meio de cultura para multiplicação de bactérias ácido lácticas;
- ✓ produzir uma cultura *starter* utilizando um microrganismo isolado de salames artesanais e aplicar em salame, avaliando sua influência nas características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais;
- ✓ avaliar o efeito do extrato de marcela (*Achyrocline satureioides*) na estabilidade oxidativa e nas características sensoriais de salames.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Embutidos fermentados

A fermentação da carne é um processo antigo usado originalmente para estender a vida de prateleira de matérias-primas perecíveis. Durante a fermentação, complexas reações bioquímicas e físicas ocorrem resultando em mudanças significativas das características iniciais. Além disso, a produção de substâncias aromáticas durante a fermentação define as características sensoriais do produto final, que são significativamente diferentes das matérias-primas utilizadas (RANTSIOU & COCOLIN, 2006).

Os embutidos fermentados são elaborados com carne suína, bovina ou ambas, caracterizando-se pelo baixo teor de umidade e atividade de água, e pelo sabor forte e picante originado devido à produção de ácidos pela fermentação microbiana. O processamento destes produtos tem como princípio básico a utilização de métodos combinados de preservação, como a redução da atividade de água e do pH, permitindo a obtenção de produtos estáveis à temperatura ambiente (PRICE & SCHWEIGERT, 1994; YAMADA & BERAQUET, 1993).

Os embutidos fermentados podem ser classificados em secos e semi-secos. A formulação em carnes, tamanho das partículas, intensidade do sabor, tipo da tripa utilizada e tempo de conservação são variáveis que contribuem para a existência de uma ampla variedade de embutidos secos e semi-secos. Os embutidos semi-secos diferem dos secos por possuírem sabor mais picante, textura mais branda e menos rugosa, contendo aproximadamente 50% de água enquanto que os secos possuem 35% de umidade permanecendo em maturação por 10 a 100 dias (PRÄNDL et al., 1994).

O sabor picante dos produtos semi-secos resulta da presença de ácidos orgânicos predominantes nos produtos comercializados com menos de 2 semanas de maturação, visto que a partir desse período iniciam-se processos de oxidação desses ácidos com conseqüente redução do sabor ácido à medida que se prolonga a maturação (LÜCKE, 2000a).

2.2 Salame

Entende-se por salame, o 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 (BRASIL, 2000). O produto final se conserva a temperatura ambiente e apresenta um aumento da vida de prateleira em consequência da inibição das bactérias patogênicas e deteriorantes (FERNÁNDEZ et al., 2001; HUGAS & MONFORT, 1997).

A fabricação de salame ocorre em duas fases: na primeira, há a fermentação com a ocorrência simultânea de acidificação e de formação de cor durante sete dias; a segunda, conhecida como maturação, consiste na desidratação como decorrência da fermentação, por vinte e três dias. Ao final deste período, o embutido deverá apresentar pH entre 5,2 a 5,4 e atividade de água igual a 0,87, caracterizando a finalização do processo. Ambas as fases ocorrem na câmara de maturação sob condições de umidade relativa, temperatura e velocidade do ar controladas (FERNÁNDEZ et al., 2001).

2.3 Elaboração do salame

O salame é elaborado utilizando como matéria-prima uma mistura de carne suína, bovina e toucinho. Além disso, contém sal, nitrato e/ou nitrito, ascorbato, açúcar, temperos e outros (BUCKENHÜSKES, 1993).

Na escolha da matéria-prima recomenda-se a utilização de carne proveniente de animais mais velhos por apresentar um teor de umidade mais baixo e uma coloração mais intensa (SILVEIRA & ANDRADE, 1991). A coloração vermelha escura do salame constitui um importante atributo de qualidade, devendo a esse fato, utilizar carne bovina nas formulações, visto conter maior teor de mioglobina que a carne suína (PARDI et al., 1996).

Para se evitar problemas no início da fermentação, as carnes utilizadas deverão ter pH normal (5,5-5,8) e um baixo nível de microrganismos indesejáveis,

como por exemplo, enterobactérias (LÜCKE, 2000b). A utilização de carnes com pH elevado do tipo DFD (escura, firme e seca) pode prejudicar a diminuição do pH no embutido, favorecendo a multiplicação de bactérias patogênicas e deteriorantes. Por outro lado, o uso de grandes quantidades de carne PSE (pálida, mole e exsudativa), a qual tem baixo pH, pode acarretar em defeitos de dessecação no produto final por uma rápida perda de umidade, além de tornar a cor do produto mais clara que a tradicional (PRÄNDL et al., 1994).

A gordura utilizada deve ser da região dorsal, cuja proporção entre ácidos graxos saturados e insaturados permite o seu estado sólido em temperatura ambiente (TERRA, 2004). Para salames com vida-de-prateleira elevada, não mais do que 12% do total de ácidos graxos podem ser poliinsaturados, caso contrário rancidez e defeitos no sabor e aroma irão se desenvolver rapidamente (LÜCKE, 2000b).

A matéria-prima pode ser moída em cutters ou moedores, de acordo com a granulometria desejada. Durante esta etapa deve-se trabalhar com o toucinho (-7°C) e as carnes congeladas (-1°C), buscando-se obter cortes limpos e partículas uniformes, tanto em tamanho como em formato. A moagem do toucinho com temperatura elevada faz com que parte da gordura se emulsione, causando a formação de uma pseudo-emulsão que irá se colocar entre a massa e a tripa, dificultando a desidratação e desqualificando a aparência do salame (TERRA, 2004).

Após a moagem, a matéria-prima é misturada com os demais ingredientes e é embutida em tripas de diâmetro variável (TYÖPPÖNEN et al., 2003). Durante o embutimento é muito importante retirar o oxigênio da massa cárnea, já que este interfere no desenvolvimento da cor e do sabor do produto final. As tripas utilizadas nesta etapa podem ser tanto naturais como artificiais, fabricadas à base de colágeno. Elas devem permitir a perda de água do embutido e ter elasticidade para tolerar a retração do envoltório que se produz durante a dessecação do produto (LÜCKE, 1998).

Após o embutimento, o produto é levado à câmara de maturação, onde se controla a temperatura, a umidade relativa e a velocidade do ar. Durante a etapa de fermentação, a temperatura da câmara deve estar entre 18 e 26°C, a umidade relativa deve ser mantida 5 a 10 unidades menor do que a umidade relativa (atividade de água X 100) no interior do salame, isto é, em torno de 85% a 90%, e a

velocidade do ar controlada em cerca de 0,4m/s durante 2 a 4 dias (LÜCKE, 1998; LÜCKE, 2000b).

Nesta etapa, as bactérias ácido lácticas metabolizam os carboidratos presentes na massa gerando ácido láctico, ocasionando uma diminuição do pH. O decréscimo de pH, além de causar a coagulação das proteínas miofibrilares, estabilizando a emulsão cárnea, produz rápida inibição de bactérias Gram negativas presentes na massa; por outro lado, quando o pH diminui, alcança-se o ponto isoelétrico das proteínas, diminuindo sua capacidade de retenção de água (ORDÓÑEZ et al., 2005). Isto favorece a secagem e conseqüentemente a perda de peso do salame, conferindo uma textura firme (consistência) e fatiabilidade ao produto final (BUCKENHÜSKES, 1993). Além disso, o ácido láctico fornece o sabor e o aroma típico desse produto (BACUS, 1986). Também acontece nesta etapa por ação das bactérias da família *Micrococcaceae*, a redução do nitrato a nitrito, e este a óxido nítrico, o qual reage com a mioglobina formando a mioglobina nitrosa, pigmento vermelho característico dos produtos curados fermentados (TERRA, 1998).

A temperatura e a umidade relativa são dois parâmetros que devem ser controlados com precisão para se obter uma fermentação adequada. Temperaturas de fermentação elevadas aceleram a acidificação, o que pode causar a inibição do desenvolvimento das micrococaceas, impedindo a redução eficaz do nitrato a nitrito, deixando os embutidos com cor indesejada, e ainda, proporcionar sabor e aroma fortes ao produto. Além disso, altas temperaturas propiciam o crescimento e produção da toxina do *Staphylococcus aureus*. Por outro lado, se a umidade relativa estiver muito baixa, poderá ocorrer uma desidratação excessiva e se formar uma crosta superficial no embutido, o que impedirá a eliminação de água do interior do produto, favorecendo o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis. No entanto, se a umidade relativa estiver muito elevada, pode ocorrer um crescimento excessivo de mofo na superfície (BACUS, 1986; LÜCKE, 1998).

Na etapa de maturação, se estabelece uma temperatura entre 12 e 18°C e uma umidade relativa decrescente até alcançar um valor de 70-75%, sendo necessário uma correta ventilação (velocidade do ar: 0,1m/s) de forma que a secagem seja homogênea (LÜCKE, 1998). Durante esta etapa se desenvolve a textura do produto através da perda de peso, que varia entre 30 a 40% e acontecem numerosas reações enzimáticas catalisadas tanto por enzimas tissulares como

microbianas, originando substâncias que contribuem para o sabor e aroma do produto final (RÖDEL & STIEBING, 1988; RUST, 1994).

2.4 Ingredientes da formulação e suas funções

O sal através da diminuição da atividade de água inicial atua como um dos primeiros obstáculos inibindo ou ao menos retardando o crescimento de microorganismos indesejáveis, enquanto que favorece o desenvolvimento das culturas *starters* adicionadas. Também induz a solubilização e a difusão das proteínas miofibrilares do músculo, as quais formam um gel entre as partículas de carne e entre a carne e a gordura, contribuindo para a fatiabilidade do produto cárneo. Além disso, o sal (NaCl 2,5-3,0%, valor inicial) é considerado um importante componente do sabor do produto final (LÜCKE, 1998).

O nitrito age como um outro obstáculo contra o crescimento de microrganismos patogênicos que possam estar presentes na matéria-prima, principalmente contra o *Clostridium botulinum*. Contribui também para a formação da cor, sabor e aroma característicos da carne curada e confere proteção contra a oxidação lipídica (JAY, 2005).

O ascorbato realça a formação da cor, acelerando a redução de nitrito a óxido nítrico (NO) e auxilia a transformação do pigmento metamioglobina em mioglobina nitrosa (PRÄNDL et al., 1994). Possui ação bloqueadora do desenvolvimento de nitrosaminas e influencia no sabor e aroma dos produtos cárneos curados. Também, tem como função inibir processos autooxidativos que levam a rancidez (ORDÓÑEZ et al., 2005).

Os temperos, tais como a pimenta e o alho, têm como papel principal contribuir para o sabor e o aroma típico dos embutidos fermentados. Além disso, possuem efeitos antioxidantes, possivelmente devido à capacidade de quelar metais e também efeitos antimicrobianos (AGUIRREZÁBAL et al., 2000; MILO OHR, 1999).

Os açúcares contribuem para melhorar o aroma da carne curada e servem de substrato para a produção de ácidos pelos microrganismos presentes na carne ou pelas culturas adicionadas (ORDÓÑEZ et al., 1998). A variedade e a quantidade de carboidratos adicionados é importante pois determina a velocidade da multiplicação

das bactérias ácido lácticas, já que quanto maior o peso molecular, menor será a velocidade da fermentação. Geralmente a formulação de embutidos fermentados contém um açúcar rapidamente fermentável, como por exemplo, a glicose, aliado a um açúcar de fermentação lenta, como a sacarose (LÜCKE, 1998).

2.5 Culturas *starters*

As culturas *starters* utilizadas em produtos cárneos são preparações que contêm microrganismos ativos ou latentes que desenvolvem atividades metabólicas desejadas na carne (HAMMES & HERTEL, 1998). Elas são adicionadas em produtos cárneos para assegurar ao produto confiabilidade em termos de saúde pública, em um menor tempo de fermentação e para se obter um produto final de qualidade, com aroma, textura e sabor constantes e, ainda, vida de prateleira prolongada. Sua adição constitui maior segurança, assegurando um produto padronizado, sempre com as mesmas características de qualidade (BACUS, 1986; BUSANI, 1990).

As culturas *starters* comerciais são geralmente compostas de mais de um microrganismo, visando somar suas ações, para se obter o efeito desejado no produto final. Os microrganismos utilizados como culturas *starters* em produtos cárneos são divididos em dois grupos: acidificantes e flavorizantes. Os acidificantes são formados pelas bactérias ácido lácticas, incluindo os gêneros *Lactobacillus* e *Pediococcus*, tendo como característica principal a produção de ácido láctico a partir de açúcares. Os flavorizantes são formados pela família *Micrococcaceae*, incluindo os gêneros *Staphylococcus* e *Micrococcus*, e por bolores (*Penicillium*) e leveduras (*Debaryomyces*), tendo como característica principal a contribuição na melhoria da coloração, do aroma e do sabor dos produtos cárneos (BACUS, 1984; JESSEN, 1995; TERRA, 1998).

Como regra geral, as culturas *starters* ácido lácticas são cepas heterofermentativas facultativas, que produzem ácido láctico a partir de hexoses, como a glicose e a lactose, como seu único produto metabólico. No entanto, a partir de pentoses, como a arabinose e a xilose, elas produzem ácido láctico e ácido

acético. A quantidade de ácido acético formada é geralmente 1/10 da quantidade de ácido láctico (ERKKILÄ, 2001).

O ácido láctico gerado pelas culturas *starters* ácido lácticas durante a fermentação causa uma redução do pH externo, alterando a homeostasia de diferentes patógenos (*Staphylococcus aureus*, *Clostridium spp.*, *Salmonella spp.*) e deteriorantes (*Pseudomonas* e *Enterococcus*). A rápida redução do pH para valores inferiores a 5,3 é suficiente para inibir o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* se os produtos forem fermentados acima de 18 °C (JAY, 2005).

A acidificação gera diferentes compostos relacionados ao sabor e aroma. O ácido láctico comunica o típico sabor ácido, característico dos produtos cárneos fermentados (TERRA, 1998). Como as bactérias ácido lácticas são em geral, fracamente proteolíticas e lipolíticas, elas influenciam a proteólise e a lipólise principalmente via decréscimo de pH, auxiliando a liberação de enzimas endógenas da carne (ERKKILÄ, 2001).

As bactérias do gênero *Micrococcus* e *Staphylococcus* possuem as enzimas nitratedutases, que reduzem o nitrato a nitrito, contribuindo na coloração do produto e impedindo a formação de compostos cancerígenos, como as nitrosaminas. São catalase positivas e não produtoras de ácido láctico. Através de suas enzimas proteolíticas e lipolíticas desenvolvem o aroma e o sabor característico dos produtos cárneos fermentados (VIGNOLO et al., 1995; TERRA, 1998).

Em determinados embutidos fermentados, se utiliza bolores na superfície do produto. Os bolores produzem enzimas lipolíticas específicas que degradam a gordura, conferindo um forte aroma, característico dos salames. Além disso, podem produzir antibióticos que afetam a flora bacteriana da superfície do salame, contribuindo para um produto final de melhor qualidade. Os bolores têm atividade catalásica e algumas espécies são redutoras de nitrato, modificando a cor da superfície do embutido. A formação de uma cobertura sobre a superfície reduz a tendência ao desenvolvimento da rancidez, por impedir a penetração de O₂ no interior da massa (BACUS, 1986; TERRA, 1998).

2.6 Meios de cultura utilizados no cultivo de bactérias ácido lácticas

As bactérias ácido lácticas são microrganismos extremamente exigentes do ponto de vista nutricional. Para o seu crescimento, esses microrganismos necessitam de um meio de cultura rico em aminoácidos pré-formados, peptídeos, derivados de ácidos nucléicos, sais, bases purínicas, pirimídicas e vitaminas, com destaque para pantotenato de cálcio, niacina e tiamina (CAPLICE & FITZGERALD, 1999).

Para o isolamento e multiplicação das bactérias ácido lácticas o mais comum e mais eficiente meio de cultura empregado em escala laboratorial é o caldo MRS (de MAN et al., 1960). No entanto o seu alto custo torna inviável a sua utilização na produção comercial dessas bactérias (ZHANG & GREASHAM, 1999). Tanto a eficiência do caldo MRS como meio de cultura e o seu alto custo são devidos à presença de uma fonte complexa de nitrogênio (peptonas, extrato de carne e levedura), a qual é capaz de suprir as exigentes necessidades de crescimento das bactérias ácido lácticas (LAITILA et al., 2004).

Vários meios de cultura para propagação de bactérias ácido lácticas têm sido desenvolvidos nos últimos anos utilizando como fonte de nitrogênio subprodutos da indústria, buscando desta forma, alternativas de baixo custo para a produção destes microrganismos em larga escala (BARBOZA et al., 1997; LAITILA et al., 2004; HORN et al., 2005).

No Brasil, são abatidos mais de 30 milhões de suínos por ano (ANUALPEC, 2005), o que gera aproximadamente 90 mil toneladas de sangue. O sangue suíno tem composição semelhante ao sangue bovino, possuindo grande quantidade de proteínas e aminoácidos essenciais (MÁRQUEZ et al., 2005). A principal utilização do sangue animal é nas indústrias alimentícias. As proteínas do sangue são adicionadas como agentes emulsificantes, estabilizantes, clarificantes, como componentes nutritivos para realçar as propriedades dos alimentos e como suplemento de lisina (HYUN & SHIN, 1998).

Entretanto, somente uma pequena proporção de sangue obtido dos animais abatidos é utilizada. A falta de um maior uso do sangue animal gera um volume excedente que é geralmente descartado no meio ambiente, elevando o nível poluente dos resíduos vindo dos abatedouros (MOURE et al., 1998).

Como alternativa para diminuir problemas ambientais e prevenir a perda de uma fonte disponível de proteína, Hyun & Shin (1998), desenvolveram um meio de cultura para a propagação de bactérias ácido lácticas substituindo a fonte de nitrogênio do caldo MRS por um hidrolisado enzimático de plasma bovino. Eles observaram que o meio de cultura produzido apresentou um crescimento de bactérias ácido lácticas significativamente alto, correspondendo a aproximadamente 74% do crescimento obtido no caldo MRS.

De forma similar, Barboza et al. (1997) utilizaram plasma bovino como fonte de nitrogênio na elaboração de um meio de cultura alternativo ao caldo MRS. Esses autores verificaram que o crescimento das bactérias ácido lácticas no meio de cultura produzido foi similar ao crescimento no caldo MRS, além de apresentar um custo extremamente inferior ao meio comercial.

2.7 Vida-de-prateleira do salame – estabilidade oxidativa

A combinação do baixo teor de umidade e pH faz com que os embutidos fermentados tenham uma vida-de-prateleira consideravelmente longa, sendo estáveis à temperatura ambiente. Geralmente, a vida-de-prateleira destes produtos não está limitada à deterioração microbiana, mas a alterações químicas ou físicas (BACUS, 1986).

Devido ao alto teor de gordura e a baixa atividade de água, a oxidação da fração lipídica é uma das principais causas da diminuição da qualidade durante a vida-de-prateleira dos salames (SINGH, 1996; SUMMO et al., 2006). O processo de oxidação se inicia na ligação carbono-hidrogênio adjacente à dupla ligação da cadeia de carbono e pode ser catalisado por um grande número de fatores, especialmente ambientais (umidade, temperatura, luz e oxigênio), presença de metais (cobre, ferro e manganês), de enzimas e pigmentos (ADAMS, 1999).

A oxidação lipídica acarreta modificações das características organolépticas dos produtos cárneos, como por exemplo, alterações da coloração da carne e da gordura, desenvolvimento de sabor e aroma desagradáveis e um decréscimo no valor nutritivo do produto devido à diminuição do conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados, cujo efeito benéfico na saúde dos consumidores é bem

documentado (ALEXANDER, 1998; BERRA et al., 2005; ROSE & CONNOLLY, 1999). Além disso, alguns produtos intermediários e finais da reação de oxidação são potencialmente tóxicos à saúde humana, tal como os compostos da oxidação do colesterol (KUBOW, 1990; PANIANGVAIT et al., 1995) e da polimerização dos triglicerídeos (ALEXANDER, 1978; CHANG et al., 1978), além dos aldeídos com α e β insaturações, incluindo o malonaldeído, que é reconhecido por seus efeitos tóxicos, mutagênicos e carcinogênicos (NEWBURG & CONCON, 1980).

O método mais usual para acompanhar a evolução da oxidação de lipídios em carnes e produtos cárneos é o teste de TBA, devido à sua simplicidade e rapidez. O teste de TBA quantifica o malonaldeído, um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poliinsaturados, formado durante o processo. A reação envolve o ácido 2-tiobarbitúrico com o malonaldeído, produzindo um composto de cor vermelha, medido espectrofotometricamente a 532 nm de comprimento de onda (de acordo com a metodologia, esse comprimento de onda pode variar, situando-se ao redor de 500 a 550 nm). Os resultados são expressos em unidades de absorvância por unidade de massa de amostra ou em “valor de TBA” ou “número de TBA”, definidos como a massa, em mg, de malonaldeído por kg de amostra. O valor de TBARS, substâncias reativas ao TBA, constitui-se numa outra maneira de expressar o valor obtido no teste de TBA, sendo atualmente mais utilizado e leva em consideração outras substâncias capazes de reagir com o ácido 2-tiobarbitúrico (OSAWA et al., 2005).

Para carnes e derivados, a informação do número de TBARS é bastante relevante. Processos envolvidos na elaboração de produtos cárneos que incluem moagem, mistura e cozimento favorecem a formação do malonaldeído, sendo fundamental o emprego do teste na avaliação da qualidade do produto final (OSAWA et al., 2005).

Na determinação da oxidação lipídica pelo teste de TBARS, todas as análises devem ser feitas através de um único meio de extração. Assim, a mudança dos valores de TBARS para uma situação particular ou um determinado tipo de produto cárneo pode mostrar o comportamento da oxidação dos lipídeos que ocorre durante o processamento e/ou armazenamento. Dessa maneira, pode-se, por exemplo, avaliar a eficácia de antioxidantes de diferentes fontes ou de diferentes embalagens, na estabilidade de um dado produto (RHEE, 1989; RAHARJO & SOFOS, 1993).

2.8 Compostos antioxidantes

Antioxidantes são substâncias usadas para preservar alimentos através do retardo da deterioração, rancidez e descoloração decorrente da autooxidação (ADEGOKE et al., 1998). Encerram múltipla ação, preservando os alimentos contra indesejáveis mudanças iniciadas em presença do oxigênio. Estas mudanças levam a deterioração do sabor, aroma e coloração dos alimentos, itens importantíssimos na observação do consumidor por ocasião da aquisição (DZIEZAK, 1986 apud MEHTA et al., 1994).

Existe uma grande quantidade de compostos, tanto naturais quanto sintéticos, com propriedades antioxidantes, embora para seu uso em alimentos devam ser cumpridos certos requerimentos, sendo um deles a segurança para a saúde (NAWAR, 1996). O emprego de agentes antioxidantes sintéticos visando o aumento do prazo de validade de produtos alimentícios tem sido freqüente devido ao seu baixo custo, estabilidade e eficácia. Porém, durante as duas últimas décadas, tanto consumidores quanto a legislação tem levantado suspeitas em relação à inocuidade dos antioxidantes sintéticos (POKORNÝ, 1991). Por isso, há uma tendência geral, no processamento de alimentos, de substituir os antioxidantes sintéticos pelos inibidores da oxidação natural ou pelo uso preferencial de ingredientes que naturalmente possuem atividade antioxidante (TSALIKI et al., 1999).

2.9 Antioxidantes naturais

O interesse pelos antioxidantes naturais teve início na década de 80 diante da comprovação de efeitos maléficos causados por doses elevadas de BHT (butil-hidroxi-tolueno), BHA (butil-hidroxi-anisol) e T-BHQ (t-butil-hidroquinona) sobre o peso do fígado e marcado aumento do retículo endoplasmático, entre outras (DURÁN & PADILLA, 1993). Como consequência, ênfase foi dada à identificação e purificação de novos compostos com atividade antioxidante, provenientes de fontes naturais, que pudessem atuar sozinhos ou sinergicamente com outros aditivos,

como alternativa para prevenir a deterioração oxidativa de alimentos e limitar o uso dos antioxidantes sintéticos (POKORNÝ, 1991).

Nos alimentos, os antioxidantes naturais podem se originar de um ou mais compostos do próprio alimento (via endógena), de substâncias formadas de reações durante o processamento ou como aditivos isolados de fontes naturais (PRATT, 1992). Os antioxidantes naturais podem funcionar como agentes redutores, como inibidores de radicais livres, como quelantes ou sequestrantes do oxigênio singlete e como desativadores de metais pró-oxidantes (KÄHKÖNEN et al., 1999; RICE-EVANS et al., 1995; PRATT, 1992).

As matérias-primas *in natura* disponíveis como frutas, vegetais em geral e condimentos contém numerosos fitoquímicos, além de compostos fenólicos, como, por exemplo, compostos nitrogenados, carotenóides, ácido ascórbico e tocoferóis. Muitos destes fitoquímicos apresentam significativa capacidade antioxidante e são associados à baixa incidência e baixa mortalidade por câncer em seres humanos que deles se utilizam (WATANABE, 1998; BIRCH et al., 2001; SLUIS et al., 2001; TOMÁS-BARBERÁN et al., 2001; VINSON et al., 2001; WANG & ZHENG, 2001; ZHENG & WANG, 2001; YILDIRIM et al., 2001).

As evidências científicas permitem afirmar que a propriedade antioxidante das especiarias e de outros vegetais se deve, principalmente, a seus compostos fenólicos (POKORNÝ, 1991). Entre estes compostos encontramos os flavonóides que apresentam diversas funções na planta, dentre estas se podem destacar a ação antioxidante e proteção contra fungos, vírus e bactérias. Estas propriedades são reconhecidas e alguns representantes da classe possuem importância farmacológica (SIMÕES et al., 2001).

A marcela (*Achyrocline satureioides*) é uma planta medicinal usada na Argentina, Uruguai, Paraguai e Brasil por suas propriedades antiespasmódica, hepatoprotetora e colerética. O alto conteúdo de compostos polifenólicos, na maioria flavonóides, e de diferentes ácidos fenólicos como o cafeico, clorogênico e isoclorogênico nas partes aéreas desta planta, tem despertado o interesse pelo estudo das suas propriedades antioxidantes (SIMÕES et al., 1988; FERRARO et al., 1981). A quercetina é um dos principais flavonóides presentes na marcela e tem sido descrita como capaz de inibir a peroxidação lipídica por capturar espécies reativas de oxigênio e quelar íons metálicos envolvidos na formação dessas espécies

reativas de oxigênio (OHSHIMA et al., 1998; DI CARLO et al., 1999; YAMAMOTO et al., 1999; HARBONE & WILLIAMS, 2000; ISHIGE et al., 2001).

A atividade antioxidante *in vitro* da marcela já foi demonstrada. Gugliucci & Menini (2002) estudaram a inibição da oxidação da LDL humana por extrato aquoso de marcela, verificando que a produção de substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico foi reduzida em 95% após 3 horas de incubação com o extrato na concentração de 5µg/ml.

Também, Desmarchelier et al. (1998) verificaram que tanto o extrato aquoso como o metanólico de marcela reduziu a produção de substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico em homogeneizados de fígado de ratos. O resultado obtido por estes pesquisadores sugere que o extrato de marcela possui significativa capacidade para carrear radicais livres.

3 ARTIGOS CIENTÍFICOS

3.1 ARTIGO 1

SALAME ELABORADO COM *Lactobacillus plantarum* FERMENTADO EM MEIO DE CULTURA DE PLASMA SUÍNO¹

Paulo C. B. Campagnol², Leadir L. M. Fries^{3,*}, Nelcindo N. Terra³, Bibiana A. dos Santos⁴, Ariane S. Furtado²

Em fase final de revisão pelos autores para ser submetido à Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, SP.

¹ Manuscrito recebido em

² Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, CCR, UFSM.

³ Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil. *Email: lucymicro@yahoo.com.br.

⁴ Graduação em Farmácia e Bioquímica, CCS, UFSM.

* A quem a correspondência deve ser enviada.

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo produzir uma cultura *starter* ácido láctica utilizando um meio de cultura de plasma suíno e aplicar em salame. O meio de cultura foi preparado misturando 300 ml de plasma suíno com 300 ml de água destilada, ajustando o pH para 11,0. Esta solução após ser esterilizada (121°C/15') foi misturada com uma solução estéril de glicose e difosfato de potássio. O microrganismo *Lactobacillus plantarum* foi fermentado com controle de pH, durante 36 horas, sob agitação contínua a 100 rpm e temperatura de 37 (\pm 0,1°C). Após entrar na fase estacionária a cultura foi liofilizada e aplicada em salame, avaliando sua influência nas características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais. Para efeitos comparativos, foram elaborados tratamentos sem adição de cultura *starter* e com adição de uma cultura comercial. O microrganismo *Lactobacillus plantarum* teve um crescimento máximo de 9,82 Log UFC.mL⁻¹, após 30 horas de fermentação e apresentou 90,05% de sobrevivência a liofilização. Os salames elaborados com a cultura *starter* produzida apresentaram uma queda de pH significativamente mais rápida e uma menor atividade de água que os demais tratamentos. Além disso, o microrganismo *Lactobacillus plantarum* melhorou significativamente o sabor dos salames.

Palavras chave: cultura *starter*, plasma suíno, salame.

SUMMARY: DRY FERMENTED SAUSAGE ELABORATED WITH *Lactobacillus plantarum* FERMENTED IN PORK PLASMA CULTURE MEDIUM

This work aimed to produce a lactic acid *starter* culture using a pork plasma culture medium and to apply in dry fermented sausage. The culture medium was prepared blending 300 ml of plasma porcine with 300 ml of distilled water, adjusting the pH to 11.0. This solution after to be sterilized (121°C/15') was mixed with a sterile solution of glucose and potassium biphosphate. The microorganism *Lactobacillus plantarum* was fermented with control of pH, during 36 hours, under continuous agitation of 100 rpm, at a temperature of 37 (\pm 0.1°C). After entering in the stationary phase the culture was lyophilized and applied in dry fermented sausage, evaluating its influence in the microbiological, physico-chemical and sensorial characteristics. For comparative effects, were elaborated treatments without addition of *starter* culture and with addition of a commercial culture. The microorganism *Lactobacillus plantarum* had a maximum growth of 9.82 Log UFC.mL⁻¹, after 30 hours of

fermentation and it presented 90.05% of survival to the lyophilization. The dry fermented sausages elaborated with the *starter* culture produced had presented a decrease on pH significantly faster and a lower water activity than the others treatments. Moreover, the microorganism *Lactobacillus plantarum* improved significantly the flavor of the dry fermented sausages.

Keywords: *starter* culture, pork plasma, dry fermented sausage.

1. INTRODUÇÃO

O sangue animal é uma fonte valiosa de proteínas que possui muitas aplicações na indústria alimentícia. As proteínas do sangue podem ser adicionadas como agentes emulsificantes, estabilizantes, clarificantes, como componentes nutritivos para realçar as propriedades dos alimentos e como suplemento de lisina [9]. No entanto, somente uma pequena proporção do sangue oriundo dos animais abatidos é utilizada desta forma, sendo a maior parte descartada no meio ambiente, elevando o nível poluente dos resíduos vindos dos abatedouros [16].

Para reduzir os problemas ambientais causados por este resíduo altamente poluente é necessário desenvolver outras formas de aproveitamento, que permitam sua utilização em larga escala. A utilização de sangue animal como fonte protéica na elaboração de um meio de cultura para a produção de culturas *starters* ácido lácticas poderia ser uma alternativa para um melhor aproveitamento deste subproduto da indústria cárnea, bem como uma forma econômica de produção desses microrganismos.

As culturas *starters* ácido lácticas desempenham um papel essencial na fabricação de produtos cárneos fermentados. A partir de açúcares presentes na massa cárnea, produzem ácido láctico, diminuindo o pH do meio. Esse decréscimo do pH faz com que as proteínas miofibrilares solubilizadas passem do estado sol para o estado de gel [6]. Também, quando o pH cai para valores próximos do ponto isoelétrico das proteínas a capacidade de retenção de água é diminuída, favorecendo a secagem e conseqüentemente a perda de peso do produto cárneo fermentado. Essas alterações conferem uma textura firme (consistência) e comunicam fatiabilidade ao produto final [4]. Além disso, a diminuição do pH faz com que o meio fique desfavorável para o desenvolvimento de muitos microrganismos patogênicos e deteriorantes [23].

As bactérias mais promissoras para serem utilizadas como culturas *starters* são aquelas que são isoladas da microbiota indígena de produtos artesanais. Esses microrganismos se adaptam bem ao meio cárneo e são capazes de controlar os microrganismos patogênicos e deteriorantes [8].

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi multiplicar o microrganismo *Lactobacillus plantarum* isolado de salames artesanais em um meio de cultura produzido com plasma sanguíneo suíno e aplicar como cultura *starter* em salame, avaliando sua influência nas características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Elaboração da cultura *starter*

2.1.1 Obtenção e fracionamento do sangue suíno

O sangue foi obtido de suínos abatidos em frigorífico sob inspeção federal, sendo coletado diretamente da ferida de sangria, em frascos contendo quantidade necessária de anticoagulante (1% de citrato de sódio). No momento da coleta, evitou-se o contato entre a vasilha coletora e a pele do animal.

Após liberado pela inspeção federal, o sangue foi imediatamente levado ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos - UFSM, onde foi centrifugado a 3000 rpm por 25 min para separação das células vermelhas (hemáceas) e do plasma. O plasma foi transferido para frascos de vidro e mantido a -18 °C, até o momento de sua utilização.

2.1.2 Preparação do meio de cultura de plasma suíno

A elaboração do meio de cultura para propagação de *Lactobacillus* foi baseada nas recomendações de BARBOZA et al. [2], com algumas modificações. Misturou-se 300mL de plasma suíno com 300mL de água destilada, ajustando-se o pH para 11,0 com hidróxido de sódio 1N. Esta solução após ser esterilizada (121°C/15') foi misturada com 400mL de solução esterilizada contendo glicose (10g) e difosfato de potássio (3g).

2.1.3 Microrganismo

Foi utilizada uma cepa de *Lactobacillus plantarum* isolada de salames artesanais [26]. A cepa isolada foi armazenada à 4°C em tubo contendo ágar MRS.

2.1.4 Preparo do inóculo para fermentação

O preparo do inóculo iniciou com a reativação da cepa de *Lactobacillus plantarum* mantida em ágar MRS, sob refrigeração. A cepa foi transferida para caldo MRS e incubada a 37°C, por 48 horas.

2.1.5 Cultivo do *Lactobacillus plantarum*

Foi inoculado no meio de cultura de plasma suíno 1% (v/v) do inóculo em relação ao volume total. A fermentação foi realizada em fermentador (MARCONI) com capacidade de 3 litros, usando um volume de trabalho de 1,5 litros. O pH foi mantido em 7,0 com a adição de NaOH 12% e as condições para o cultivo foram agitação de 100 rpm, temperatura de 37°C ($\pm 0,1$ °C) e tempo de 36 horas.

2.1.6 Avaliação do fermentado

Para monitoramento do processo fermentativo durante as primeiras 18 horas, foram coletadas amostras, em duplicata, em frascos estéreis, no intervalo de seis horas. Após este período, as amostras passaram a ser coletadas em intervalos de três horas.

A contagem de células viáveis foi realizada mediante contagem padrão em placas, usando ágar MRS. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C, por 48 horas. O resultado foi expresso em unidades formadoras de colônias por mL (UFC.mL⁻¹) de amostra [27]. A densidade ótica foi estimada por leitura espectrofotométrica a 610 nm, utilizando-se espectrofotômetro (LAMBDA 2S MODELO PERKIN ELMER).

2.1.7 Manutenção da cultura *starter*

Após a cepa de *Lactobacillus plantarum* entrar na fase estacionária, verificado através da suspensão da adição de hidróxido de sódio no meio de plasma suíno, uma alíquota do meio fermentado foi centrifugada a 3000 rpm, por 20 minutos. O sobrenadante foi desprezado e a biomassa foi lavada e ressuspensa a 10% (w/v) em leite desnatado esterilizado, congelada e liofilizada (12 horas a 50 mmHg).

2.1.8 Sobrevivência do *Lactobacillus plantarum* durante a liofilização

A sobrevivência foi verificada pelo número de células viáveis em unidades formadoras de colônia por mL antes e após a liofilização. Diluições decimais da

suspensão de leite desnatado foram feitas antes do congelamento e plaqueadas em ágar MRS e incubadas à 37°C, por 48 horas. As amostras liofilizadas foram ressuspensas em água peptonada a 0,1%, diluídas, plaqueadas e incubadas da mesma maneira [19].

2.2 Aplicação da cultura *starter* em salame

2.2.1 Elaboração do salame

As amostras de salame foram elaboradas de acordo com a seguinte formulação: carne suína (700 g/kg), carne bovina (300 g/kg), cloreto de sódio (25 g/kg), glicose (5 g/kg), sacarose (5 g/kg), mistura comercial de cura, contendo nitrato e nitrito de sódio (3 g/kg), ascorbato de sódio (2,5 g/kg), pimenta branca (2 g/kg), alho (3 g/kg) e noz moscada (0,2 g/kg). A carne suína foi moída em disco de 12 mm e a carne bovina em disco de 8 mm. Após a moagem as carnes sofreram a adição de cloreto de sódio, misturando-se em misturadeira durante 3 minutos para a extração das proteínas miofibrilares. A seguir, foram adicionados os demais ingredientes, com exceção do ascorbato de sódio que foi acrescentado por último [28].

A massa cárnea foi dividida igualmente em três lotes, originando os seguintes tratamentos: Controle, sem adição de cultura *starter*; Tratamento 1 (T1), adição de cultura *starter* comercial Floracarn SPX (Chr. Hansen), contendo os microrganismos *Pediococcus pentosaceus* e *Staphylococcus xylosus*; Tratamento 2 (T2), adição da cultura *starter* liofilizada de *Lactobacillus plantarum* produzida utilizando meio de cultura de plasma suíno e cultura *starter* comercial Floracarn SX (Chr. Hansen), contendo o microrganismo *Staphylococcus xylosus*. A quantidade de cultura *starter* adicionada foi de 0,25 g/kg, sendo que no T2 utilizou-se uma percentagem de 70% de *Lactobacillus plantarum* e 30% de *Staphylococcus xylosus*.

A massa cárnea dos tratamentos foi embutida em tripas artificiais de colágeno, com 60 mm de diâmetro e cortadas em peças de aproximadamente 15 cm de comprimento. Após o embutimento, as amostras foram submetidas a um banho em solução de sorbato de potássio (20%) e encaminhadas para a câmara climatizada, com temperatura e umidade relativa controlada, onde permaneceram até atingir uma atividade de água de 0,87. A programação de temperatura e umidade relativa (T%/UR%) foram as seguintes: primeiro dia, temperatura 25°C/U.R. 95%; segundo dia, 24°C/93%, terceiro dia, 23°C/90%, quarto dia, 22°C/85%, quinto

dia, 21°C/80%, sexto dia, 20°C/75% e sétimo dia em diante, 18°C/75%. Concluída a fabricação, retiraram-se as tripas e as peças dos embutidos fermentados foram embaladas à vácuo e armazenadas a temperatura ambiente.

2.2.2 Análises físico-químicas

2.2.2.1 Determinação do pH

A medição do pH foi realizada homogeneizando-se dez gramas de amostra com água destilada (1:10 amostra/água). O homogeneizado foi submetido aos eletrodos do pHmetro Digimed, por cinco minutos, quando foi procedida a leitura do pH [29]. A determinação do pH foi realizada no início (0 dia) e com 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14 e 21 dias de fabricação.

2.2.2.2 Determinação da atividade de água (Aw).

A determinação da Aw foi realizada utilizando o aparelho Testo 400 CE, (TESTO GMBH & CO.), ocorrendo às determinações nos dias 0, 3, 7, 14 e 21 de fabricação.

2.2.2.3 Perda de peso

A perda de peso foi determinada pela diferença de peso existente entre as peças cárneas no momento do embutimento e após o produto acabado [29].

2.2.2.4 Medição da cor

A determinação da cor foi realizada pelo aparelho Minolta Chroma Meter CR-300 (MINOLTA). Os resultados foram expressos como L* (brilho), a* (índice vermelho) e b* (índice amarelo). As determinações foram realizadas nos dias 0, 3, 7, 14 e 21 de fabricação.

2.2.3 Análises microbiológicas

Porções de 25 gramas de salame foram homogeneizadas com 225 mL de água peptonada 0,1% e diluições decimais foram utilizadas para as análises microbiológicas. Os salames foram analisados após a sua fabricação (0 dia) e com 3, 7, 14 e 21 dias de fermentação e maturação. Foram realizadas as determinações de bactérias ácido lácticas em meio ágar MRS, *Staphylococcus coagulase negativa* em meio ágar BAIRD-PARKER, *Staphylococcus coagulase positiva* utilizando a

prova bioquímica da coagulase com plasma de coelho, coliformes totais em meio ágar cristal violeta-vermelho neutro-bile e coliformes fecais em caldo EC [27].

2.2.4 Análise sensorial

Foi realizado, no produto pronto, um teste sensorial de aceitação, utilizando – se uma escala hedônica estruturada de sete pontos, variando de desgostei muitíssimo (nota 1) a gostei muitíssimo (nota 7). Para avaliação das amostras foram utilizados 30 provadores não treinados, mas consumidores de salame, sendo avaliados os atributos de cor, aroma, sabor e textura [15].

2.2.5 Análise estatística

Todas as determinações foram realizadas em triplicata e os dados foram avaliados através de análise de variância (ANOVA). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, considerando o nível de significância de 5% ($p < 0,05$), utilizando o pacote estatístico SAS, versão 6.12 [25].

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Elaboração da cultura *starter*

A curva de crescimento e a densidade óptica a 610 nm do cultivo de *Lactobacillus plantarum* em meio de plasma suíno encontram-se na Figura 1. A fermentação, com concentração média inicial de células viáveis de *Lactobacillus plantarum* de $6,67 \text{ Log UFC.mL}^{-1}$, alcançou seu crescimento máximo no tempo de 30 horas ($9,82 \text{ Log UFC.mL}^{-1}$), vindo posteriormente a decrescer. A densidade ótica apresentou o mesmo comportamento, atingindo um pico máximo de 0,83 após 30 horas de fermentação. Esses resultados são muito semelhantes aos encontrados por HYUN & SHIN [9], que ao utilizarem um hidrolisado enzimático de plasma bovino como fonte de nitrogênio na elaboração de um meio de cultura para propagação de bactérias ácido lácticas encontraram um crescimento máximo de $9,71 \text{ Log UFC.mL}^{-1}$, após 24 horas de fermentação.

A cepa de *Lactobacillus plantarum* ao entrar na fase estacionária, após 30 horas de fermentação em meio de cultura de plasma suíno, foi liofilizada, para posteriormente ser aplicada como cultura *starter* em salame. A taxa de sobrevivência a liofilização da cepa estudada foi de 90,05%. Essa elevada sobrevivência a liofilização é de suma importância, já que as culturas *starters* são geralmente

comercializadas na forma liofilizada, e a estabilidade ao processo de liofilização é um fator essencial para a produção dessas bactérias.

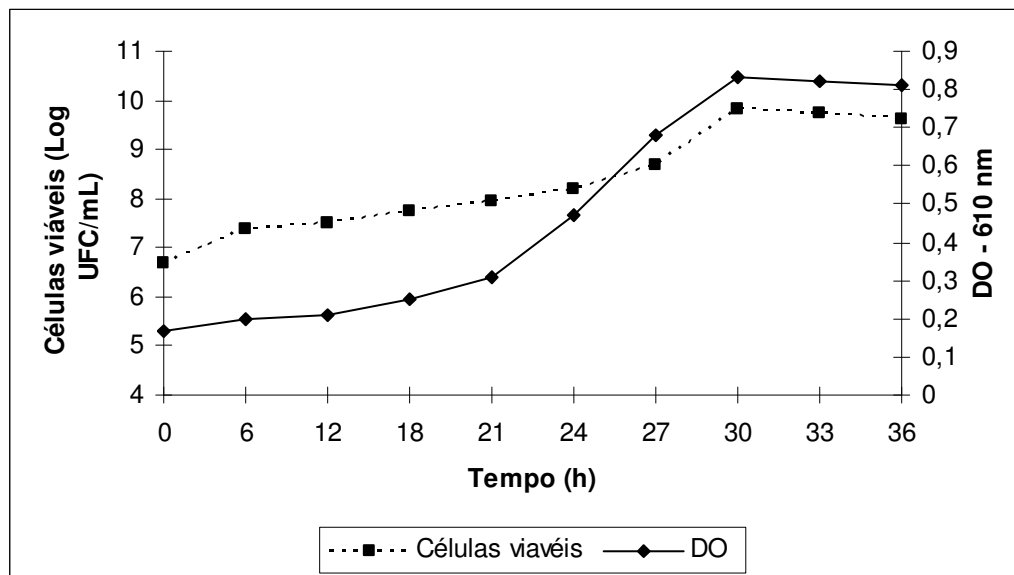


Figura 1. Curva de crescimento e densidade óptica a 610 nm do cultivo de *Lactobacillus plantarum* em meio de cultura de plasma suíno.

3.2. Aplicação da cultura *starter* em salame

3.2.1. Análises físico-químicas

A evolução do pH durante o período de fabricação dos salames é mostrada na Figura 2. Observa-se que em todos os tratamentos os valores de pH diminuíram até o sétimo dia de elaboração dos salames. Essa queda ocorreu fundamentalmente devido ao acúmulo de ácido láctico, formado pela ação das bactérias ácido lácticas sobre os carboidratos presentes na massa cárnea [28]. O declínio no valor de pH durante os primeiros dias de fermentação é muito importante para a produção de salames de alta qualidade e segurança devido à inibição de microrganismos indesejáveis, conversão e estabilização da cor e formação de compostos desejáveis de sabor e aroma [14]. Após o sétimo dia, foi observado um aumento dos valores de pH em todos os lotes, devido à produção de amônia (proteólise), em decorrência da atividade enzimática durante a maturação [13].

A partir do segundo dia de fermentação os tratamentos T1 e T2 apresentaram uma diminuição do valor de pH significativamente maior que o lote controle, persistindo esta diferença até o final da maturação. O tratamento T2 apresentou uma queda maior ($p < 0,05$) que o lote T1 a partir do segundo dia até o sexto dia de fermentação, apresentando valores semelhantes ao final da fermentação (7º dia).

Esta diferença pode ser atribuída ao fato de que os microrganismos do gênero *Lactobacillus*, presentes no tratamento T2, são mais acidificantes que os *Pediococcus*, presentes no T1 [1], e, além disso, temperaturas de 20 a 25°C favorecem o gênero *Lactobacillus*, que se desenvolve mais rapidamente que os *Pediococcus* [17]. Após o sétimo dia, o lote T1 teve uma maior elevação no pH que o tratamento T2, ficando com um pH final significativamente mais elevado (Tabela 1).

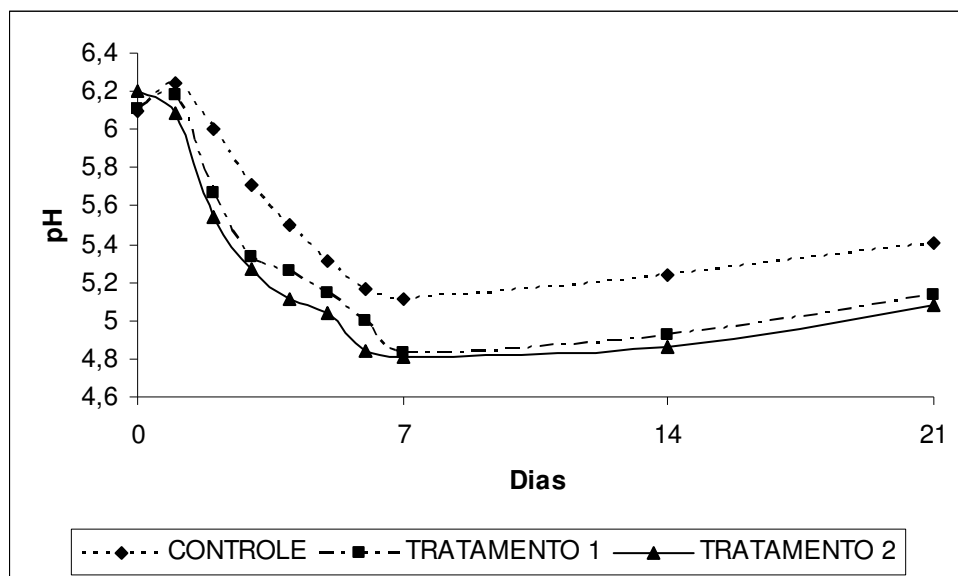


Figura 2. Evolução do pH dos salames formulados com diferentes culturas *starters*. Controle: sem inoculação de cultura *starter*; Tratamento 1: inoculado com *Pediococcus pentosaceus* e *Staphylococcus xylosus*; Tratamento 2: inoculado com *Lactobacillus plantarum* fermentado em meio de cultura de plasma suíno e *Staphylococcus xylosus*.

A atividade de água diminuiu em todos os lotes durante o processamento (Figura 3). Esta redução pode ser atribuída ao decréscimo nos valores de pH, pois a capacidade de retenção de água das proteínas da carne é diminuída quando o pH se aproxima do seu ponto isoelétrico, acelerando a desidratação e consequentemente reduzindo a A_w [5]. O tratamento T2, que apresentou uma maior queda de pH, apresentou atividade de água significativamente menor que os demais tratamentos no final do processo de fabricação (Tabela 1). Concordando com estes resultados, NASSU, GONÇALVES & BESERRA [18] ao avaliarem a ação de diferentes culturas *starters* na elaboração de embutidos fermentados de carne caprina, encontraram menores valores de A_w em amostras que apresentaram uma maior queda de pH, devido a maior perda de água.

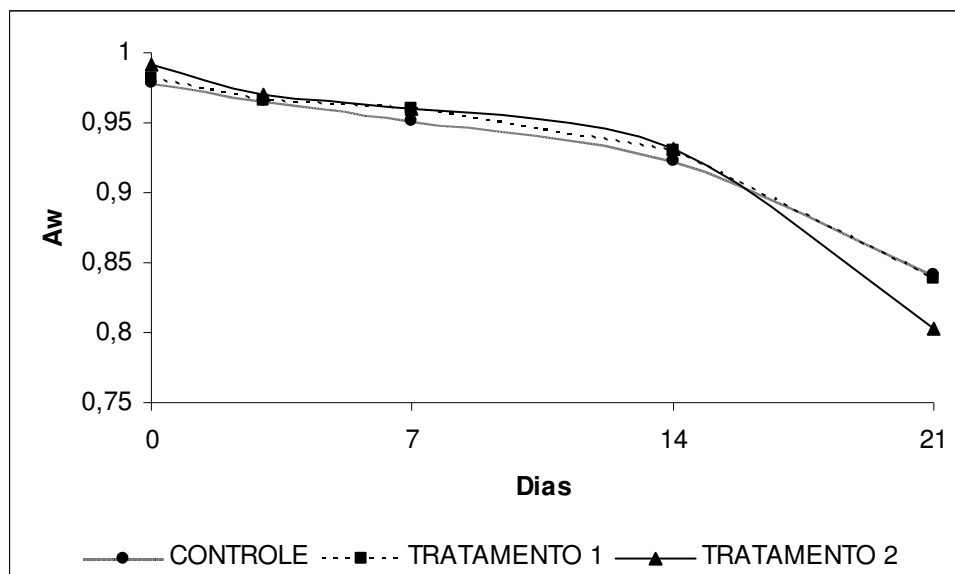


Figura 3. Evolução da Aw dos salames formulados com diferentes culturas *starters*. Controle: sem inoculação de cultura *starter*; Tratamento 1: inoculado com *Pediococcus pentosaceus* e *Staphylococcus xylosus*; Tratamento 2: inoculado com *Lactobacillus plantarum* fermentado em meio de cultura de plasma suíno e *Staphylococcus xylosus*.

A perda de peso ficou em torno de 60%, não apresentando diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 1). Esses valores estão acima da faixa de 30 a 40%, considerada ideal para produtos fermentados secos [24]. Essa perda excessiva de peso ocorreu provavelmente devido a não utilização de tocinho na formulação, que se presente não seria desidratado face às condições do trabalho.

Tabela 1. Valores finais de pH, Aw e perda de peso nas partidas de salames formulados com diferentes culturas *starters*.

	CONTROLE	TRATAMENTO 1	TRATAMENTO 2
pH	5,40c	5,13b	5,08a
Aw	0,842b	0,838b	0,803a
Perda de peso (%)	60,05a	59,31a	59,62a

Médias acompanhadas pela mesma letra, na mesma linha, não apresentam diferença significativa ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey. Controle: sem inoculação de cultura *starter*; Tratamento 1: inoculado com *Pediococcus pentosaceus* e *Staphylococcus xylosus*; Tratamento 2: inoculado com *Lactobacillus plantarum* fermentado em meio de cultura de plasma suíno e *Staphylococcus xylosus*.

Os valores da determinação da cor nos salames durante a fabricação estão na Tabela 2. Os valores de L^* diminuíram em todos os tratamentos ao longo dos 21 dias de fabricação, não sendo observada diferença significativa entre os tratamentos. Este decréscimo representa a formação da cor escura em decorrência de reações de escurecimento [3]. Semelhantemente, KAYAARDI & GÖK [13] verificaram que os valores de L^* de salames geralmente decrescem durante o período de maturação.

Os valores de a^* aumentaram durante os primeiros 14 dias e então diminuíram no final do período de fabricação (Tabela 2). Durante os primeiros dias de fermentação, o óxido nítrico já presente na carne combina-se com a mioglobina produzindo a nitrosomioglobina [14]. Como este pigmento tem coloração vermelha, os valores de a^* aumentaram durante a elaboração do salame. Foi observado valores de a^* nos tratamentos T1 e T2 significativamente maiores que o controle nos dias 3 e 7, devido provavelmente a ação das culturas *starters* presentes. De acordo com TERRA [28], a acidificação causada pelas bactérias lácticas acelera a formação de cor e a redução de nitrato a nitrito, causada pelos *Staphylococcus*, aumenta a disponibilidade de NO para reagir com a mioglobina. A possível razão para a diminuição nos valores de a^* no final da maturação pode ser a parcial ou total desnaturação do pigmento nitrosomioglobina devido à produção de ácido láctico [20]. Concordando com estes resultados, KAYAARDI & GÖK [10] observaram que valores de a^* de salames aumentaram durante o período de fermentação, e então diminuíram durante a maturação, em decorrência da desidratação.

Os valores de b^* diminuíram em todos os tratamentos durante a fabricação, não sendo observada diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 2). Estes resultados concordam com os dados obtidos por PEREZ-ALVAREZ et al. [20], que observaram a diminuição dos valores de b^* de salames durante a fermentação e maturação, atribuindo este decréscimo ao consumo de oxigênio pelos microrganismos, e a conseqüente diminuição da oximioglobina, a qual contribui para a coloração amarela.

Tabela 2. Valores médios da determinação de cor dos salames formulados com diferentes culturas *starters* expressos como L* (brilho), a* (índice vermelho) e b* (índice amarelo)

Dias	Tratamentos*	L*	a*	b*
0	C	52,77a	11,22a	12,88a
	T1	53,22a	11,00a	12,16a
	T2	53,64a	11,32a	12,95a
3	C	46,45a	18,58b	10,86a
	T1	46,51a	22,91a	10,82a
	T2	48,58a	20,60a	10,57a
7	C	44,50a	23,11b	10,22a
	T1	46,64a	23,91a	10,45a
	T2	45,78a	23,73a	10,20a
14	C	40,93a	23,42a	10,62a
	T1	43,76a	24,30a	11,23a
	T2	44,74a	24,34a	11,00a
21	C	37,22a	20,62a	7,88a
	T1	38,70a	18,85b	6,89a
	T2	38,02a	20,74a	7,49a

Médias acompanhadas pela mesma letra, na mesma coluna, no mesmo dia, não apresentam diferença significativa ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey. * C: sem inoculação de cultura *starter*; T1: inoculado com *Pediococcus pentosaceus* e *Staphylococcus xylosus*; T2: inoculado com *Lactobacillus plantarum* fermentado em meio de cultura de plasma suíno e *Staphylococcus xylosus*.

3.2.2 Análises microbiológicas

Durante todo o período de fabricação dos salames não foi detectada em nenhum tratamento a presença de coliformes fecais e de *Staphylococcus* coagulase positiva (Tabela 3). Com relação às bactérias ácido lácticas, foi verificado que no início da fermentação, o controle apresentou uma contagem de aproximadamente $4,0 \text{ Log UFC.g}^{-1}$. Já os tratamentos T1 e T2 apresentaram uma contagem inicial de bactérias ácido lácticas de aproximadamente $7,0 \text{ Log UFC.g}^{-1}$, a qual foi significativamente superior ao controle, devido a inoculação das culturas lácticas.

Após 7 dias de fermentação, o lote controle alcançou uma contagem de bactérias ácido lácticas de aproximadamente $8,0 \text{ Log UFC.g}^{-1}$, permanecendo praticamente estável até o final da maturação. Nos tratamentos contendo culturas *starters* (T1 e T2) foi observado uma contagem próxima de $8,0 \text{ Log UFC.g}^{-1}$ após 3 dias de fermentação, diminuindo em aproximadamente um ciclo logarítmico no tratamento T1 no final da maturação, sendo significativamente menor que os outros tratamentos, e mantendo-se quase estável no tratamento T2. Estes resultados estão de acordo com RANTSIOU & COCOLIN [21], que afirmam que as bactérias ácido lácticas são os microrganismos que dominam a flora microbiana de embutidos fermentados, devido às condições anaeróbicas do meio, presença de cloreto de sódio, nitrato e nitrito, alcançando uma contagem de $7-8 \text{ Log UFC.g}^{-1}$ após três dias de fermentação, permanecendo relativamente sem alterações, em número, durante todo o período de maturação.

As contagens de *Staphylococcus* coagulase negativa nos tratamentos T1 e T2 apresentaram uma diminuição de aproximadamente um ciclo logarítmico no final do processo de maturação (Tabela 3). Este é um comportamento normal destes microrganismos, visto que a diminuição do pH e da concentração de oxigênio são fatores limitantes de seu crescimento [22]. No entanto, no lote controle, foi verificado um aumento de $3,61 \text{ Log UFC.g}^{-1}$ para $7,23 \text{ Log UFC.g}^{-1}$ no final da maturação. Este aumento pode ser atribuído ao maior valor de pH do lote controle (5,40) comparado aos tratamentos T1 (5,13) e T2 (5,08), uma vez que essas bactérias são sensíveis à acidificação [11].

Os valores iniciais de coliformes totais (Tabela 3) foram baixos, evidenciando a boa qualidade higiênico-sanitária da matéria-prima. Os coliformes totais foram progressivamente eliminados em todos os tratamentos durante a fabricação. No entanto algumas diferenças foram observadas entre os salames com e sem culturas *starters*. O controle apresentou coliformes totais durante quase todo o período de maturação, enquanto que nos salames contendo culturas *starters*, os coliformes totais desapareceram no 7^a dia. A grande e rápida queda de pH (Figura 2) ocorrida nos salames inoculados pode parcialmente explicar a rápida redução e a eliminação desses microrganismos como outros autores observaram [7, 12].

Tabela 3. Análises microbiológicas (Log UFC.g⁻¹) durante o período de fabricação dos salames formulados com diferentes culturas *starters*.

Dias	Trat.*	Bactérias ácido lácticas	Staphylococcus coagulase negativa	Staphylococcus coagulase positiva	Coliformes totais	Coliformes fecais
0	C	4,06b	3,61b	< 1,00	2,89a	< 1,00
	T1	6,94a	6,86a	< 1,00	2,80a	< 1,00
	T2	7,13a	7,09a	< 1,00	2,74a	< 1,00
3	C	7,47b	5,96b	< 1,00	2,77b	< 1,00
	T1	8,15a	7,00a	< 1,00	1,71a	< 1,00
	T2	8,04a	5,31c	< 1,00	1,75a	< 1,00
7	C	7,91b	6,89a	< 1,00	2,78	< 1,00
	T1	7,51c	7,01a	< 1,00	< 1,00	< 1,00
	T2	8,03a	6,18b	< 1,00	< 1,00	< 1,00
14	C	7,83b	7,05a	< 1,00	1,41	< 1,00
	T1	7,45c	6,04b	< 1,00	< 1,00	< 1,00
	T2	8,09a	6,20b	< 1,00	< 1,00	< 1,00
21	C	7,99a	7,23a	< 1,00	< 1,00	< 1,00
	T1	7,01b	5,78b	< 1,00	< 1,00	< 1,00
	T2	7,98a	5,67b	< 1,00	< 1,00	< 1,00

Médias acompanhadas pela mesma letra, na mesma coluna, no mesmo dia, não apresentam diferença significativa ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey. * C: sem inoculação de cultura *starter*; T1: inoculado com *Pediococcus pentosaceus* e *Staphylococcus xylosus*; T2: inoculado com *Lactobacillus plantarum* fermentado em meio de cultura de plasma suíno e *Staphylococcus xylosus*.

3.2.3 Análise sensorial

Os valores médios para os quesitos de cor, aroma, sabor e textura estão na Tabela 4. De uma maneira geral, todos os parâmetros analisados variaram entre gostei muito e gostei moderadamente, não ocorrendo diferença significativa nos atributos de cor, aroma e textura. Houve diferença significativa apenas para o atributo sabor, onde o tratamento T2 apresentou um maior valor, em comparação com os outros tratamentos, indicando uma maior preferência dos painelistas pelo salame elaborado com a cultura *starter* de *Lactobacillus plantarum* isolada de salames artesanais e produzida utilizando meio de cultura de plasma suíno.

Tabela 4. Valores médios de notas de aceitação sensorial para cor, aroma, sabor e textura dos salames.

	CONTROLE	TRATAMENTO 1	TRATAMENTO 2
Cor	5,9a	5,6a	5,7a
Aroma	5,2a	5,0a	5,5a
Sabor	5,0b	5,0b	6,0a
Textura	5,2a	4,8a	4,95a

Médias acompanhadas pela mesma letra, na mesma linha, não apresentam diferença significativa ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey. Controle: sem inoculação de cultura *starter*; Tratamento 1: inoculado com *Pediococcus pentosaceus* e *Staphylococcus xylosus*; Tratamento 2: inoculado com *Lactobacillus plantarum* fermentado em meio de cultura de plasma suíno e *Staphylococcus xylosus*.

4. CONCLUSÃO

O meio de cultura de plasma suíno é uma alternativa na produção comercial de bactérias ácido lácticas, visto que foi eficiente na multiplicação do microrganismo *Lactobacillus plantarum*.

Os salames elaborados com a cultura *starter* de *Lactobacillus plantarum* isolada de salames artesanais e produzida em meio de cultura de plasma suíno apresentaram uma queda de pH significativamente mais rápida e uma menor atividade de água que os demais tratamentos, garantindo maior segurança microbiológica. Além disso, o microrganismo *Lactobacillus plantarum* melhorou significativamente o sabor dos salames produzidos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] BACUS, J. Update: meat fermentation 1984. **Food Technology**, v. 38, n. 6, p. 59-69, 1984.
- [2] BARBOZA Y.; MARQUEZ, E.; GOMEZ, O.; RANGEL, L. Development of a bovine plasma medium for propagation of lactobacilli. **J. Food Sci. Tech.**, v. 34, n. 2, p. 261-263, 1997.
- [3] BOZKURT H.; BAYRAM, M. Colour and textural attributes of sucuk during ripening. **Meat Science**, v. 73, n. 2, p. 344–350, 2006.
- [4] BUCKENHÜSKES, H. J. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as *starter* cultures for various food commodities. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 12, n. 1-3, p. 253-271, 1993.
- [5] CHASCO, J.; LIZASO, G.; BERIAIN, M. J. Cured colour development during sausage processing. **Meat Science**, v. 44, n. 3, p. 203-211, 1996.
- [6] FLORES, J.; BERMELL, S. Dry-cured sausages – Factors influencing souring and their consequences. **Fleischwirtsch**, v. 76, n. 2, p. 163-165, 1996.
- [7] GONZÁLES-FERNÁNDEZ, C.; SANTOS, E. M.; ROVIRA, J.; JAIME, I. The effect of sugar concentration and *starter* culture on instrumental and sensory textural properties of chorizo-Spanish dry-cured sausage. **Meat Science**, v. 74, n. 3, p. 467-475, 2006.
- [8] HUGAS, M.; MONFORT, J. M. Bacterial starter cultures for meat fermentation. **Food Chemistry**, v. 59, n. 4, p. 547-554, 1997.
- [9] HYUN, C. K.; SHIN, H. K. Utilization of bovine blood plasma obtained from a slaughterhouse for economic production of probiotics. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v. 86, n. 1, p. 34-37, 1998.
- [10] KAYAARDI, S.; GÖK, V. Effect of replacing beef fat with olive oil on quality characteristics of Turkish soudjouk (sucuk). **Meat Science**, v. 66, n. 1, p. 249–257, 2003.
- [11] LEUSCHNER, R. G. K.; HAMMES, W. P. Tyramine degradation by micrococci during ripening of fermented sausage. **Meat Science**, v. 49, n. 3, p. 289–296, 1998.
- [12] LIZASO, G.; CHASCO, J.; BERIAIN, M. J. Microbial and biochemical changes during ripening of salchichón, a Spanish dry cured sausage. **Food Microbiology**, v. 16, n. 3, p. 219-228, 1999.

- [13] LÜCKE, F. K. Fermented sausages. In: WOOD, B. J. B (Ed.) **Microbiology of fermented foods**. 2nd ed., London: Blackie Academy Professional, 1998, v. 2, p. 441-483.
- [14] LÜCKE, F. K. Fermented meat products. **Food Research International**, v. 27, n. 3, p. 299-307, 1994.
- [15] MORAES, M. A. C. **Métodos para avaliação sensorial dos alimentos**. 6^a ed. Campinas: UNICAMP, 1988.
- [16] MOURE, F.; RENDUELES, M.; DÍAZ, M. Aprovechamiento del plasma procedente de sangre de mataderos. **Alimentaria**, v. 36, n. 290, p. 41–50, 1998.
- [17] NASSU, R. T. **Utilização de carne de caprinos no processamento de embutido fermentado, tipo salame**. Campinas, 1999. 154p. Tese (Doutorado em Tecnologia dos Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).
- [18] NASSU, R. T.; GONÇALVES, L. A. G.; BESERRA, F. J. Utilização de diferentes culturas *starter* no processamento de embutido fermentado de carne de caprinos. **Ciência Rural**, v. 32, n. 6, p. 1051-1055, 2002.
- [19] PALMFELDT, J.; HAHN – HÄGERDAL, B. Influence of culture pH on survival of *Lactobacillus reuteri* subjected to freeze-drying. **International Journal of Food Microbiology**, v. 55, n. 1-3, p. 235–238, 2000.
- [20] PEREZ-ALVAREZ, J. A.; SAYES-BARBARE, M. E.; FERNANDEZ-LOPEZ, J.; ARANDA-CATALA, V. Physicochemical characteristics of Spanish type dry-cured sausage. **Food Research International**, v. 32, n. 9, p. 599–607, 1999.
- [21] RANTSIOU, K.; COCOLIN, L. New developments in the study of the microbiota of naturally fermented sausages as determined by molecular methods: A review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 108, n. 2, p. 255-267, 2006.
- [22] ROIG-SAGUÉS, A. X.; HERNÁNDEZ-HERRERO, M. M.; LÓPEZ-SABATER, E. I.; RODRÍGUEZ-JEREZ, J. J.; MORA-VENTURA, M. T. Microbiological events during the elaboration of “fuet”, a Spanish ripened sausage. **European Food Research and Technology**, v. 209, n. 2, p. 108–112, 1999.
- [23] ROSS, R.P.; MORGAN, S.; HILL, C. Preservation and fermentation: past, present and future. **International Journal of Food Microbiology**, v. 79, n. 1-2, p. 3-16, 2002.

- [24] RUST, R. E. Productos Embutidos. In: PRICE, J. F., SCHWEIGERT, B. S. (Ed) **Ciencia de La Carne y de Productos Carnicos**. 2ª ed. Zaragoza: Acríbia, 1994, p. 415-440.
- [25] SAS. **Sas Institute Inc**. Cary, NC, 1996.
- [26] SAWITZKI, M. C. **Caracterização de bactérias ácido lácticas isoladas de salames artesanais e aplicadas como cultivos iniciadores em salame tipo Italiano**. Santa Maria, 2000. 60p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).
- [27] SIQUEIRA, S. **Manual de microbiologia de alimentos**. Brasília: Embrapa, 1995.
- [28] TERRA, N. N. **Apontamentos de tecnologia de carnes**. São Leopoldo: Editora Unisinos, 1998.
- [29] TERRA, N. N.; BRUM, M. A. R. **Carne e seus derivados – técnicas de controle de qualidade**. São Paulo: Nobel, 1988.

3.2 ARTIGO 2

O EFEITO DO EXTRATO DE MARCELA (*Achyrocline satureioides*) NA OXIDAÇÃO LIPÍDICA DE SALAMES¹

Paulo C. B. Campagnol², Leadir L. M. Fries^{3,*}, Nelcindo N. Terra³, Bibiana A. dos Santos⁴, Ariane S. Furtado², Edson R. L. Toneto²

Em fase final de revisão pelos autores para ser submetido à Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, SP.

¹ Manuscrito recebido em

² Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, CCR, UFSM.

³ Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil. *Email: lucymicro@yahoo.com.br.

⁴ Graduação em Farmácia e Bioquímica, CCS, UFSM.

* A quem a correspondência deve ser enviada.

RESUMO

O efeito de dois níveis (0,5% e 1%) de extrato hidro-alcoólico de marcela (*Achyrocline satureioides*) na segurança (valores de TBARS) e qualidade (pH, atividade de água, cor, perda de peso e atributos sensoriais) de salames foi avaliado. A adição de extrato de marcela significativamente diminuiu os valores de TBARS durante o armazenamento dos salames, comparado ao controle, elaborado sem extrato de marcela. O tratamento com 1% de extrato de marcela mostrou uma maior estabilidade lipídica que o lote com 0,5%, porém apresentou uma diminuição ($p < 0,05$) na aceitação sensorial. Os dois níveis de extrato de marcela não influenciaram significativamente os parâmetros de pH, atividade de água, cor e perda de peso. Este estudo indicou que o extrato hidro-alcoólico de marcela foi efetivo na diminuição da oxidação lipídica e que a concentração de 0,5% não alterou as características sensoriais, podendo, portanto, ser utilizada em salames para proporcionar produtos mais seguros aos consumidores.

Palavras-chave: Salame, oxidação lipídica, antioxidante natural, marcela

ABSTRACT: THE EFFECT OF THE MARCELA (*Achyrocline satureioides*) EXTRACT IN THE LIPID OXIDATION OF THE DRY FERMENTED SAUSAGES

The effect of two levels (0.5% and 1%) of hydroalcoholic extract of marcela (*Achyrocline satureioides*) in the security (TBARS values) and quality (pH, water activity, colour, weight loss and sensorial attributes) of dry fermented sausages was evaluated. The addition of marcela extract significantly decreased the TBARS values during the storage of the dry fermented sausages, compared with the control, elaborated without marcela extract. The treatment with 1% of marcela extract showed a bigger oxidative stability than that with 0.5%, however it presented a reduction ($p < 0.05$) in the sensorial acceptance. The two marcela extract levels had not significantly influenced the parameters of pH, water activity, colour and weight loss. This study indicated that the hydroalcoholic extract of marcela was effective in the reduction of the lipid oxidation and that the concentration of 0.5% did not modify the sensorial characteristics, being able, therefore, to be used in dry fermented sausages to provide safer products to the consumers.

Keywords: Dry fermented sausage, lipid oxidation, natural antioxidant, marcela

1. INTRODUÇÃO

A vida de prateleira dos embutidos cárneos fermentados geralmente não é limitada pela deterioração microbiana, mas por alterações químicas ou físicas [3]. Devido ao alto teor de gordura e a baixa atividade de água, a oxidação lipídica é considerada um dos principais fatores limitantes da vida de prateleira destes produtos.

A oxidação lipídica acarreta modificações das características organolépticas dos produtos cárneos, como por exemplo, alterações da coloração da carne e da gordura, desenvolvimento de sabor e aroma desagradáveis e um decréscimo no valor nutricional do produto devido à diminuição do conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados, cujo efeito benéfico na saúde dos consumidores é bem documentado [2, 4, 30]. Além disso, alguns produtos intermediários e finais da reação de oxidação são potencialmente tóxicos à saúde humana, tal como os compostos da oxidação do colesterol [20, 26] e da polimerização dos triglicerídeos [1, 7], além dos aldeídos com α e β insaturações, incluindo o malonaldeído, que é reconhecido por seus efeitos tóxicos, mutagênicos e carcinogênicos [25].

Os antioxidantes apresentam-se como alternativa para prevenir a deterioração oxidativa dos alimentos e minimizar os danos oxidativos nos seres vivos. Como o emprego de antioxidantes sintéticos na indústria de alimentos tem sido alvo de questionamentos quanto a sua inocuidade, as pesquisas encontram-se voltadas para a busca de compostos naturais que exibam esta propriedade funcional [22].

Várias pesquisas estão sendo realizadas na tentativa de se descobrir novas fontes de antioxidantes naturais para utilização em carne e em produtos cárneos [9, 21, 16, 17, 18]. A *Achyrocline satureioides*, popularmente conhecida como marcela, é uma planta medicinal usada na Argentina, Uruguai, Paraguai e Brasil por suas propriedades antiespasmódica, hepatoprotetora e colerética. O alto conteúdo de compostos polifenólicos, na maioria flavonóides, e de diferentes ácidos fenólicos como o cafeico, clorogênico e isoclorogênico [34, 11], sugere que esta planta pode possuir potentes efeitos antioxidantes. Existem alguns relatos das propriedades antioxidantes da marcela [10, 12], mas a sua aplicação em produtos cárneos não tem sido estudada.

Este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do extrato de marcela (*Achyrocline satureioides*) na estabilidade oxidativa e nas características sensoriais de embutidos fermentados do tipo salame durante o armazenamento.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Preparação do extrato

O produto vegetal seco (30 gramas de inflorescências da marcela) foi homogeneizado com solvente, transferido para um béquer e deixado durante 1 hora à temperatura ambiente. Transcorrido este período, procedeu-se a filtração utilizando-se papel de filtro Whatman nº 6. A parte sólida foi submetida a mais duas extrações sucessivas, com o objetivo de extrair totalmente o princípio ativo da matéria prima. Os 3 filtrados foram recolhidos e concentrados em rotaevaporador (Rotavapor® RE 120 - Büchi, Flawil, Suíça) até 7% do volume inicial, obtendo-se assim o extrato bruto que foi mantido sob refrigeração em frasco de vidro, ao abrigo da luz. Na elaboração do extrato, a relação líquido-sólido foi de 12:1. Na primeira extração, o solvente empregado foi uma mistura de etanol 95% com água destilada (12:1) e nas duas seguintes etanol 95%.

2.2 Elaboração do salame

As amostras de salame foram elaboradas de acordo com a seguinte formulação: carne suína (600 g/kg), carne bovina (300 g/kg), toucinho (100 g/kg), cloreto de sódio (25 g/kg), glicose (5 g/kg), sacarose (5 g/kg), mistura comercial de cura, contendo nitrato e nitrito de sódio (3 g/kg), ascorbato de sódio (2,5 g/kg), pimenta branca (2 g/kg), alho (3 g/kg), noz moscada (0,02 g/kg) e cultura *starter* comercial Floracarn SPX (Chr. Hansen) (0,25 g/kg). A carne suína foi moída em disco de 12 mm e a carne bovina em disco de 8 mm. O toucinho foi cortado, com o auxílio de facas, em cubos de aproximadamente 1 cm³. Após a moagem as carnes e o toucinho sofreram a adição de cloreto de sódio, misturando-se em misturadeira durante 3 minutos para a extração das proteínas miofibrilares. A seguir, foram incorporados os demais ingredientes, e por último, adicionou-se a cultura *starter* previamente diluída em água destilada (200 ml de água para cada 100 kg de massa cárnea), isenta de cloro, 30 minutos antes da adição à mistura [35].

A massa cárnea foi dividida igualmente em três lotes, originando os seguintes tratamentos: (1) controle, sem adição de extrato hidro-alcoólico de marcela; (2) adição de 0,5% de extrato hidro-alcoólico de marcela; (3), adição de 1% de extrato hidro-alcoólico de marcela.

A massa cárnea dos tratamentos foi embutida em tripas artificiais de colágeno, de 60 mm de diâmetro, cortadas em peças de aproximadamente 15 cm de comprimento. Após o embutimento, as amostras foram submetidas a um banho em solução de sorbato de potássio (20%) e encaminhadas para a câmara climatizada, com temperatura e umidade relativa controladas, onde permaneceram até atingir uma atividade de água de 0,87. A programação de temperatura e umidade relativa (T^o/UR%) foram as seguintes: primeiro dia, temperatura 25 °C/U.R. 95%; segundo dia, 24 °C/93%, terceiro dia, 23 °C/90%, quarto dia, 22 °C/85%, quinto dia, 21 °C/80%, sexto dia, 20 °C/75% e sétimo dia em diante, 18 °C/75%. Concluída a fabricação, retiraram-se as tripas e as peças dos embutidos fermentados foram embaladas à vácuo e armazenadas a temperatura ambiente durante 90 dias.

2.3 Análises físico-químicas

2.3.1 Determinação do pH

A medição do pH foi realizada homogeneizando-se dez gramas de amostra com água destilada (1:10 amostra/água). O homogeneizado foi submetido aos eletrodos do pHmetro Digimed, por cinco minutos, quando foi procedida a leitura do pH [36]. A determinação do pH foi realizada no início (0 dia) e com 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14 e 19 dias de fabricação.

2.3.2 Determinação da atividade de água (Aw).

A determinação da Aw foi realizada utilizando o aparelho Testo 400 CE, (TESTO GMBH & CO.), ocorrendo às determinações nos dias 0, 3, 7, 14, 16 e 19 de fabricação.

2.3.3 Perda de peso

A perda de peso foi determinada pela diferença de peso existente entre as peças cárneas no momento do embutimento e após o produto acabado [36].

2.3.4 Medição da cor

A determinação da cor foi realizada pelo aparelho Minolta Chroma Meter CR-300, (MINOLTA). Os resultados foram expressos como L* (brilho), a* (índice vermelho) e b* (índice amarelo). As determinações foram realizadas nos dias 0, 3, 7, 14 e 19 de fabricação.

2.3.5 Avaliação da oxidação lipídica

As substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) resultantes da oxidação lipídica foram determinadas segundo o método de RAHARJO et al. [29]. Os valores de TBARS foram determinados em triplicata para cada amostra após zero, 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias de armazenamento e os resultados foram expressos em mg de malonaldeído por quilograma de amostra.

2.4 Análise sensorial

A aceitação global dos produtos foi avaliada nos dias zero, 30, 60 e 90 de armazenamento, com auxílio de um painel constituído de 30 provadores não treinados, mas consumidores de salame, utilizando-se uma escala hedônica estruturada de sete pontos, variando de desgostei muitíssimo (nota 1) a gostei muitíssimo (nota 7). As amostras foram oferecidas aos painelistas em pratos plásticos brancos, codificados com três dígitos, acompanhadas de um copo de água e biscoito do tipo água e sal [23].

2.5 Análise estatística

Todas as determinações foram feitas em triplicata e os dados foram avaliados através de análise de variância (ANOVA). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, considerando o nível de significância de 5% ($p < 0,05$), utilizando o pacote estatístico SAS, versão 6.12 [33].

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análises físico-químicas

As mudanças nos valores de pH durante o período de fabricação dos salames são apresentadas na Figura 1. Foi observado durante os primeiros sete dias de fabricação, uma diminuição dos valores de pH de 5,80 para aproximadamente 4,95, devido provavelmente ao acúmulo de ácido láctico, formado pelas bactérias ácido lácticas [35]. O declínio no valor de pH durante os primeiros dias de fermentação é muito importante para a produção de salames de alta qualidade e segurança devido à inibição de microrganismos indesejáveis, conversão e estabilização da cor e formação de compostos desejáveis de sabor e aroma [15]. Após o sétimo dia, os valores de pH aumentaram para em torno de 5,14. Isto pode ser atribuído à

produção de amônia e de aminas biogênicas como resultado da atividade enzimática [14]. O extrato de marcela não afetou significativamente ($p>0,05$) os valores de pH durante o período de fabricação dos salames, sugerindo desta forma, que sua adição não ocasiona alterações no processo fermentativo.

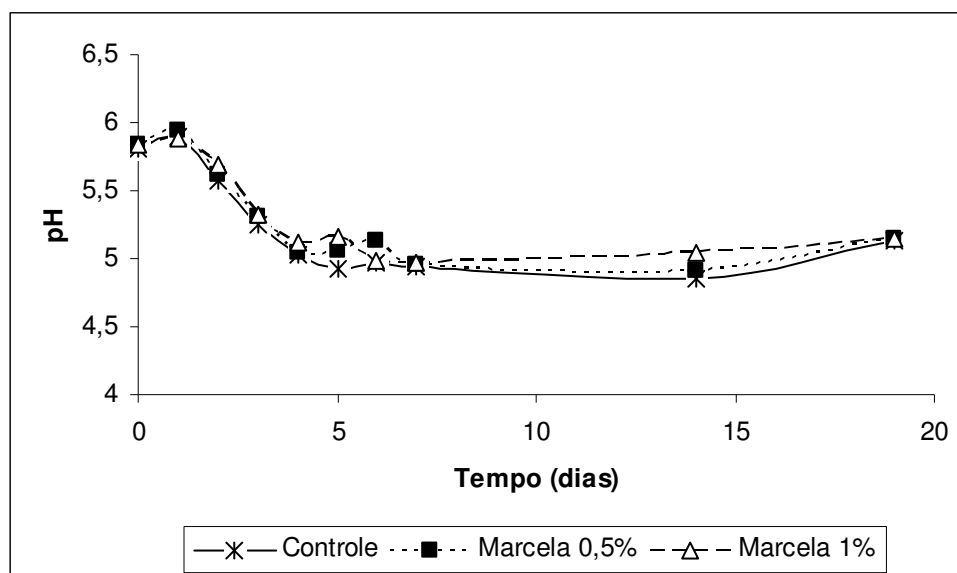


Figura 1. Evolução do pH durante o período de fabricação dos salames formulados com diferentes níveis de extrato hidro-alcoólico de marcela. Controle: sem adição de extrato de marcela; Marcela 0,5%: adição de 0,5% de extrato hidro-alcoólico de marcela; Marcela 1%: adição de 1% de extrato hidro-alcoólico de marcela.

As mudanças nos valores de atividade de água (A_w) durante o período de fabricação dos salames são mostradas na Figura 2. A A_w diminuiu ao longo da fabricação, atingindo um valor de 0,87 em todos os tratamentos após 19 dias. Esta redução é atribuída ao decréscimo nos valores de pH, pois a capacidade de retenção de água das proteínas da carne é diminuída quando o pH se aproxima do seu ponto isoelétrico, acelerando a desidratação e conseqüentemente reduzindo a A_w [8]. A análise estatística demonstrou que a adição do extrato de marcela não influenciou significativamente ($p>0,05$) a atividade de água durante o período de fabricação.

A perda de peso foi de 46,92%, 46,78% e 45,86% no lote controle e nos salames adicionados de 0,5 e 1% de extrato de marcela, respectivamente. Não sendo observada diferença significativa ($p>0,05$) entre os tratamentos. Esses valores estão muito próximos da faixa de 30 a 40%, considerada ideal para produtos fermentados secos [31].

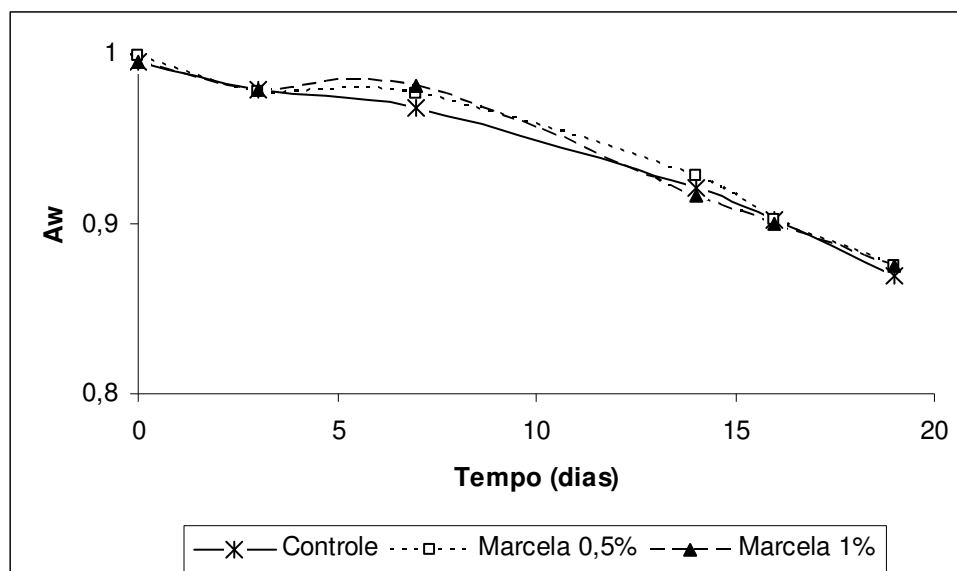


Figura 2. Evolução da atividade de água durante o período de fabricação dos salames formulados com diferentes níveis de extrato hidro-alcoólico de marcela. Controle: sem adição de extrato de marcela; Marcela 0,5%: adição de 0,5% de extrato hidro-alcoólico de marcela; Marcela 1%: adição de 1% de extrato hidro-alcoólico de marcela.

A Tabela 1 apresenta os valores da determinação da cor durante a fabricação dos salames. Os valores de L^* diminuíram em todos os tratamentos ao longo dos 19 dias de fabricação, não sendo observada diferença significativa entre os tratamentos. Este decréscimo representa a formação da cor escura em decorrência de reações de escurecimento [6]. Semelhantemente, KAYAARDI & GÖK [19] verificaram que os valores de L^* de salames geralmente decrescem durante o período de maturação.

Os valores de a^* aumentaram durante todo o período de fabricação (Tabela 1). Durante os primeiros dias de fermentação, o óxido nítrico já presente na carne combina-se com a mioglobina produzindo a nitrosomioglobina [15]. Como este pigmento tem coloração vermelha, os valores de a^* aumentaram durante a elaboração dos salames. A adição de extrato de marcela reduziu significativamente os valores de a^* no início (0 dia) e no 3º dia de fabricação. Entretanto, a partir do 7º dia, os valores de a^* , apesar de menores nos tratamentos com extrato de marcela, não diferiram significativamente do controle.

Os valores de b^* diminuíram em todos os tratamentos durante a fabricação, não sendo observada diferença significativa entre os mesmos (Tabela 1). Estes resultados concordam com os dados obtidos por PEREZ-ALVAREZ et al. [27], que observaram a diminuição dos valores de b^* de salames durante a fermentação e

maturação, atribuindo este decréscimo ao consumo de oxigênio pelos microrganismos, e a conseqüente diminuição da oximioglobina, a qual contribui para a coloração amarela.

Tabela 1 – Valores médios da determinação de cor dos salames formulados com diferentes níveis de extrato hidro-alcoólico de marcela expresso como L* (brilho), a* (índice vermelho) e b* (índice amarelo)

Dias	Tratamentos*	L*	a*	b*
0	Controle	51,18a	14,90a	12,06a
	Marcela 0,5%	54,39a	11,23b	12,89a
	Marcela 1%	53,39a	11,77b	13,23a
3	Controle	50,01a	21,15a	11,56a
	Marcela 0,5%	49,16a	18,11b	11,11a
	Marcela 1%	49,26a	17,13b	11,39a
7	Controle	48,86a	21,72a	11,43a
	Marcela 0,5%	47,95a	19,04a	11,06a
	Marcela 1%	49,71a	18,81a	11,34a
14	Controle	44,26a	24,01a	11,22a
	Marcela 0,5%	43,28a	21,26a	10,87a
	Marcela 1%	42,11a	21,58a	11,60a
19	Controle	37,78a	24,33a	10,59a
	Marcela 0,5%	42,55a	22,28a	10,82a
	Marcela 1%	38,02a	21,63a	11,03a

Médias acompanhadas pela mesma letra, na mesma coluna, no mesmo dia, não apresentam diferença significativa ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey. * Controle: sem adição de extrato de marcela; Marcela 0,5%: adição de 0,5% de extrato hidro-alcoólico de marcela; Marcela 1%: adição de 1% de extrato hidro-alcoólico de marcela.

O teste de TBARS é o método mais usual para acompanhar a evolução da oxidação lipídica em carnes e produtos cárneos [28]. As mudanças nos valores de TBARS foram acompanhadas durante os 90 dias de armazenamento (Figura 3). A oxidação lipídica foi significativamente afetada ($p < 0,05$) pela adição de extrato de

marcela. No início do armazenamento (0 dia), os valores de TBARS dos tratamentos contendo 0,5 e 1% de extrato de marcela, apresentaram uma diminuição de 26% e 44%, respectivamente, em relação ao controle, e estes apresentaram valores significativamente menores que o controle durante todo o período de armazenamento. Após 45 dias de armazenamento, o número de TBARS no tratamento contendo 1% de extrato de marcela foi metade do valor encontrado no controle. Estes resultados sugerem que o extrato de marcela retardou a oxidação lipídica durante o período de armazenamento dos salames. Neste experimento foi observado, para todos os tratamentos, um aumento nos valores de TBARS até o 45º dia de armazenamento, e então, um decréscimo. Esta diminuição pode ser atribuída às reações do malonaldeído com proteínas, durante o período de armazenamento [24, 32]. NASSU et al. [24], em um estudo avaliando o efeito de diferentes níveis de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) na estabilidade oxidativa de embutidos fermentados de carne caprina, relataram valores de TBARS com o mesmo comportamento deste estudo, durante um período de armazenamento de 90 dias. Resultados semelhantes também foram relatados por BOZKURT [5], em um estudo sobre o efeito de diferentes antioxidantes em salames do tipo Turco (“sucuk”) durante a fabricação.

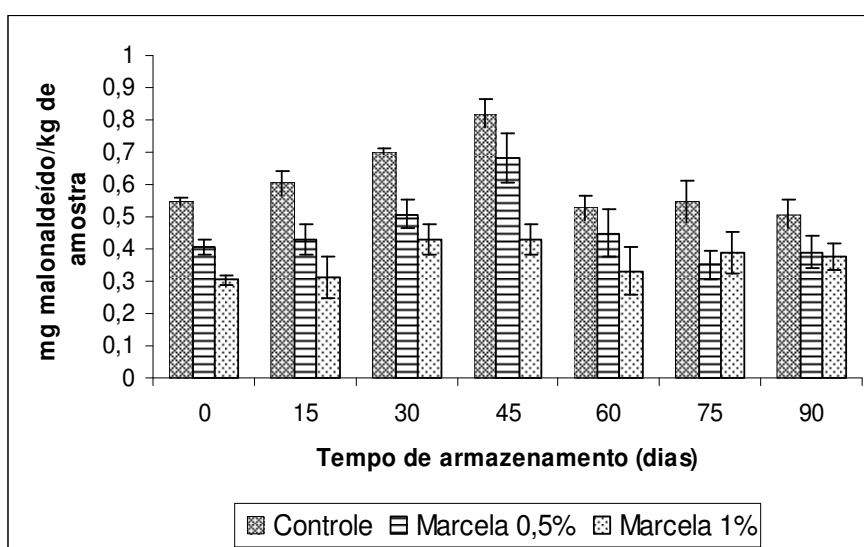


Figura 3. Valores médios do número de TBARS (\pm desvio padrão) durante o armazenamento dos salames formulados com diferentes níveis de extrato hidro-alcoólico de marcela. Controle: sem adição de extrato de marcela; Marcela 0,5%: adição de 0,5% de extrato hidro-alcoólico de marcela; Marcela 1%: adição de 1% de extrato hidro-alcoólico de marcela.

3.2 Análise sensorial

As notas médias da aceitação global em função do tempo de armazenamento são apresentadas na Figura 4. Segundo LABUZA & SCHMIDL [13], considera-se o final da vida útil do produto quando ocorre uma diminuição de 1,5 pontos na escala hedônica. Neste experimento, isto não ocorreu em nenhuma amostra, indicando que todos os tratamentos podem ser considerados aceitáveis até os 90 dias de armazenamento, em temperatura ambiente. Não foram encontradas diferenças significativas entre o tratamento contendo 0,5% de extrato de marcela e o controle. No entanto, a adição de 1% de extrato hidro-alcoólico de marcela diminuiu significativamente a aceitação global, depreciando a qualidade sensorial do produto.

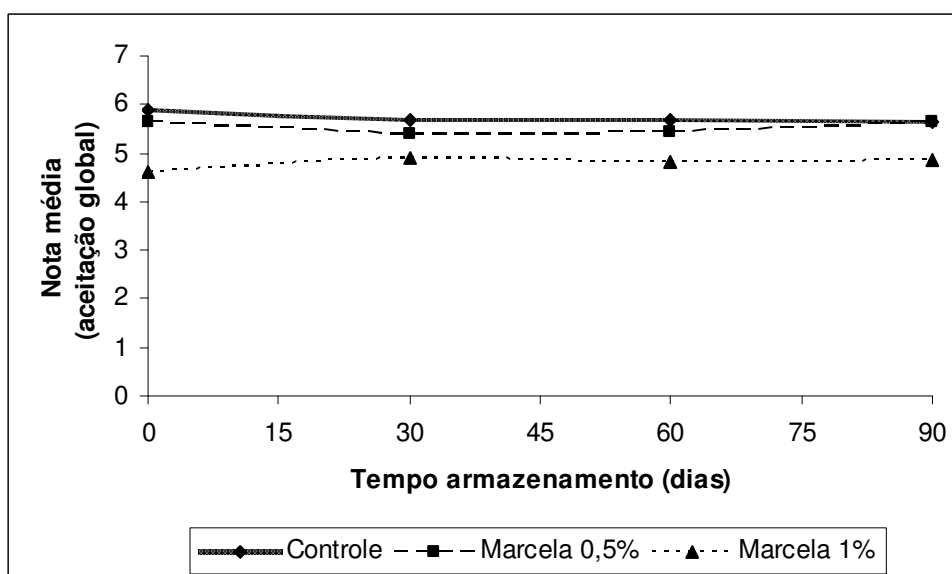


Figura 4. Valores médios da aceitação global durante o armazenamento dos salames formulados com diferentes níveis de extrato hidro-alcoólico de marcela. Controle: sem adição de extrato de marcela; Marcela 0,5%: adição de 0,5% de extrato hidro-alcoólico de marcela; Marcela 1%: adição de 1% de extrato hidro-alcoólico de marcela.

4. CONCLUSÃO

O extrato hidro-alcoólico de marcela foi efetivo na diminuição da oxidação lipídica dos salames durante o armazenamento. A adição de 0,5% de extrato hidro-alcoólico de marcela não interferiu na aceitação global dos produtos. Portanto, esta concentração pode ser utilizada na elaboração de salames, proporcionando produtos mais seguros para os consumidores.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ALEXANDER, J. C. Biological effects due to changes in fats during heating. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 55, n. 10, p. 711–717, 1978.
- [2] ALEXANDER, J. W. Immunonutrition: The role of ω -3 fatty acids. **Nutrition**, v. 14, n. 7-8, p. 627–633, 1998.
- [3] BACUS, J. **Utilization of microorganisms in meat processing: a handbook for meat plant operators**. Letchworth: Research Studies Press Ltd., 1986.
- [4] BERRA, B.; MONTORFANO, G.; RIZZO, A. M. Omega-6 e omega-3: rationale per lo studio del loro rapporto. **Progress in Nutrition**, v. 7, n. 1, p. 24–33, 2005.
- [5] BOZKURT, H. Utilization of natural antioxidants: Green tea extract and *Thymbra spicata* oil in Turkish dry-fermented sausage. **Meat Science**, v. 73, n. 3, p. 442–450, 2006.
- [6] BOZKURT H.; BAYRAM, M. Colour and textural attributes of sucuk during ripening. **Meat Science**, v. 73, n. 2, p. 344–350, 2006.
- [7] CHANG, S. S.; PETERSON, R. J.; HO, C. T. Chemical reactions involved in the deep-fat frying of foods. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 55, n. 10, p. 718–727, 1978.
- [8] CHASCO, J.; LIZASO, G.; BERIAIN, M. J. Cured colour development during sausage processing. **Meat Science**, v. 44, n. 3, p. 203-211, 1996.
- [9] CHEAH, P. B.; HASIM, N. H. A. Natural antioxidant extract from galangal (*Alpinia galanga*) for minced beef. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, n.10, p. 1565-1571, 2000.
- [10] DESMARCHELIER, C.; COUSSIO, J.; CICCIA, G. Antioxidant and free radical scavenging effects in extracts of the medicinal herb *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. ("marcela"). **Brasilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 31, n. 9, p. 1163-1170, 1998.
- [11] FERRARO, E. G.; NORBEDO, C.; COUSSIO, J. Polyphenols from *Achyrocline satureioides*. **Phytochemistry**, v. 20, n. 8, p. 2053-2054, 1981.
- [12] GUGLIUCCI, A.; MENINI, T. Three different pathways for human LDL oxidation are inhibited in vitro by water extracts of the medicinal herb *Achyrocline satureioides*. **Life Sciences**, v. 71, n. 6, p. 693-705, 2002.
- [13] LABUZA, T. P.; SCHIMDL, M. K. Use of sensory data in the shelf life testing of foods: principles and graphical methods for evaluation. **Cereals Foods World**, v. 33, n. 2, p. 193–206, 1988.

- [14] LÜCKE, F. K. Fermented sausages. In: WOOD, B. J. B (Org.). **Microbiology of fermented foods**. 2nd ed., London: Blackie Academy Professional, 1998, v. 2, p. 441-483.
- [15] LÜCKE, F. K. Fermented meat products. **Food Research International**, v. 27, n. 3, p. 299-307, 1994.
- [16] KANATT, S. R.; CHANDER, R.; RADHAKRISHNA, P.; SHARMA, A. Potato peel extract – a natural antioxidant for retarding lipid peroxidation in radiation-processed lamb meat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 5, p. 1499–1504, 2005.
- [17] KANATT, S. R.; CHANDER, R.; SHARMA, A. Effect of irradiated chitosan on the rancidity of radiation-processed lamb meat. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 39, n. 9, p. 997–1003, 2004.
- [18] KARPINSKA, M.; BOROWSKI, J.; DANOWSKA-OZIEWICZ, M. The use of natural antioxidants in ready-to-serve food. **Food Chemistry**, v. 72, n. 1, p. 5-9, 2001.
- [19] KAYAARDI, S.; GÖK, V. Effect of replacing beef fat with olive oil on quality characteristics of Turkish soudjouk (sucuk). **Meat Science**, v. 66, n. 1, p. 249–257, 2003.
- [20] KUBOW, S. Toxicity of dietary lipid peroxidation products. **Trends in Food Science and Technology**, v. 1, p. 67–71, 1990.
- [21] MCCARTHY, T. L.; KERRY, J. P.; KERRY, J. F.; LYNCH, P. B.; BUCKLEY, D. J. Evaluation of the antioxidant potential of natural food/plant extracts as compared with synthetic antioxidants and vitamin E in raw and cooked pork patties. **Meat Science**, v. 58, n. 1, p. 45-52, 2001.
- [22] MELO, E. A., GUERRA, N. B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Boletim do SBCTA**, v. 36, n. 1, p.1-11, 2002.
- [23] MORAES, M. A. C. **Métodos para avaliação sensorial dos alimentos**. 6ª ed. Campinas: UNICAMP, 1988.
- [24] NASSU, R. T.; GONÇALVES, L. A. G.; DA SILVA, M. A. A. P.; BESERRA, F. J. Oxidative stability of fermented goat meat sausage with different levels of natural antioxidant. **Meat Science**, v. 63, n. 1, p. 43–49, 2003.
- [25] NEWBURG, D. S.; CONCON, J. M. Malonaldehyde concentrations in food are affected by cooking conditions. **Journal of Food Science**, v. 45, n. 6, p. 1681–1687, 1980.

- [26] PANIANGVAIT, P.; KING, A. J.; JONES, A. D.; GERMAN, B. G. Cholesterol oxides in foods of animal origin. **Journal of Food Science**, v. 60, n. 6, p. 1159–1174, 1995.
- [27] PEREZ-ALVAREZ, J. A.; SAYES-BARBARE, M. E.; FERNANDEZ-LOPEZ, J.; ARANDA-CATALA, V. Physicochemical characteristics of Spanish-type dry-cured sausage. **Food Research International**, v. 32, n. 9, p. 599–607, 1999.
- [28] RAHARJO, S.; SOFOS, J. N.; SCHMIDT, G. R. Improved speed, specificity and limit of determination of an aqueous acid extraction thiobarbituric acid-C₁₈ method for measuring lipid peroxidation in beef. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, n. 2, p. 2182-2185, 1992.
- [29] RAHARJO, S.; SOFOS, J. N. Methodology for measuring malonaldehyde as a product of lipid peroxidation in muscle tissues: A review. **Meat Science**, v. 35, n. 2, p. 145-169, 1993.
- [30] ROSE, D. P.; CONNOLLY, J. M. Omega 3 fatty acids as cancer chemopreventive agents. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 83, n. 3, p. 217–244, 1999.
- [31] RUST, R. E. Productos Embutidos. In: PRICE, J. F.; SCHWEIGERT, B. S. (Org.). **Ciencia de La Carne y de Productos Carnicos**. 2nd ed. Zaragoza: Acríbia, 1994, p. 415-440.
- [32] SAMMET, K.; DUEHLMEIER R.; SALLMANN H. P.; VON CANSTEIN C.; VON MUEFFLING T.; NOWAK B. Assessment of the antioxidative potential of dietary supplementation with α -tocopherol in low-nitrite salami-type sausages. **Meat Science**, v. 72, n. 2, p. 270–279, 2006.
- [33] SAS. **Sas Institute Inc.**, Cary, NC, 1996
- [34] SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; BAUER, L.; LANGELOH, A. Pharmacological investigations on *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC., compositae. **Journal of ethnopharmacology**, v. 22, n. 3, p. 281-293, 1988.
- [35] TERRA, N. N. **Apontamentos de Tecnologia de Carnes**. São Leopoldo. Editora Unisinos. 1998.
- [36] TERRA, N. N. & BRUM, M. A. R. **Carne e seus derivados: Técnicas de Controle de Qualidade**. São Paulo: Nobel, 1988.

4 DISCUSSÃO

Neste trabalho, foi verificada através de contagem de células viáveis e densidade ótica, a capacidade do microrganismo *Lactobacillus plantarum* crescer em um meio de cultura produzido com plasma suíno. A fermentação com concentração média inicial de células viáveis de *Lactobacillus plantarum* de 6,67 Log UFC.mL⁻¹ alcançou seu crescimento máximo no meio de cultura de plasma suíno no tempo de 30 horas (9,82 Log UFC.mL⁻¹), vindo posteriormente a decrescer. A densidade ótica apresentou o mesmo comportamento, atingindo um pico máximo de 0,83 após 30 horas de fermentação. Esses resultados são muito semelhantes aos encontrados por HYUN & SHIN (1998), que ao utilizarem um hidrolisado enzimático de plasma bovino como fonte de nitrogênio na elaboração de um meio de cultura para propagação de bactérias ácido lácticas encontraram um crescimento máximo de 9,71 Log UFC.mL⁻¹, após 24 horas de fermentação.

A cepa de *Lactobacillus plantarum* ao entrar na fase estacionária, após 30 horas de fermentação em meio de cultura de plasma suíno, foi liofilizada, para posteriormente ser aplicada como cultura *starter* em salame. A taxa de sobrevivência a liofilização da cepa estudada foi de 90,05%. Essa elevada sobrevivência a liofilização é de suma importância, já que as culturas *starters* são geralmente comercializadas na forma liofilizada, e a estabilidade ao processo de liofilização é um fator essencial para a produção dessas bactérias.

A cultura *starter* produzida com o microrganismo *Lactobacillus plantarum* foi então aplicada em salame, avaliando-se sua influência nas características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais. Foram produzidos salames sem adição de cultura *starter* e com a adição da cultura comercial T-SPX (C. Hansen) para efeitos comparativos. Foi observado durante o período de fabricação dos salames que em todos os tratamentos os valores de pH diminuíram até o sétimo dia de elaboração. Essa queda ocorreu fundamentalmente devido ao acúmulo de ácido láctico, formado pela ação das bactérias ácido lácticas sobre os carboidratos presentes na massa cárnea (TERRA, 1998). O declínio no valor de pH durante os primeiros dias de fermentação é muito importante para a produção de salames de alta qualidade e segurança devido à inibição de microrganismos indesejáveis,

conversão e estabilização da cor e formação de compostos desejáveis de sabor e aroma (LÜCKE, 1994). Após o sétimo dia, foi observado um aumento dos valores de pH em todos os lotes, devido à produção de amônia (proteólise), em decorrência da atividade enzimática durante a maturação (LÜCKE, 1998).

A partir do segundo dia de fermentação os tratamentos T1 e T2 apresentaram uma diminuição do valor de pH significativamente maior que o lote controle, persistindo esta diferença até o final da maturação. O tratamento T2 apresentou uma queda maior ($p < 0,05$) que o lote T1 após o segundo dia até o sexto dia de fermentação, apresentando valores semelhantes ao final da fermentação (7º dia). Esta diferença pode ser atribuída ao fato de que os microrganismos do gênero *Lactobacillus*, presentes no tratamento T2, são mais acidificantes que os *Pediococcus*, presentes no T1 (BACUS, 1984), e, além disso, a temperaturas de 20 a 25°C (utilizadas neste trabalho), os *Lactobacillus* se desenvolvem mais rapidamente que os *Pediococcus* (NASSU, 1999). Após o sétimo dia, o lote T1 teve uma maior elevação no pH que o tratamento T2, ficando com um pH final significativamente mais elevado.

A atividade de água diminuiu em todos os lotes durante o processamento. Esta redução pode ser atribuída ao decréscimo nos valores de pH, pois a capacidade de retenção de água das proteínas da carne é diminuída quando o pH se aproxima do seu ponto isoelétrico, acelerando a desidratação e conseqüentemente reduzindo a A_w (CHASCO et al., 1996). O tratamento T2, que apresentou uma maior queda de pH, apresentou atividade de água significativamente menor que os demais tratamentos no final do processo de fabricação. Concordando com estes resultados, Nassu et al. (2002) ao avaliarem a ação de diferentes culturas *starters* na elaboração de embutidos fermentados de carne caprina, encontraram menores valores de A_w em amostras que apresentaram uma maior queda de pH, devido a maior perda de água.

A perda de peso ficou em torno de 60%, não apresentando diferença significativa entre os tratamentos. Esses valores estão acima da faixa de 30 a 40%, considerada ideal para produtos fermentados secos (RUST, 1994). Essa perda excessiva de peso ocorreu provavelmente devido a não utilização de tocinho na formulação, pois se presente não seria desidratado face às condições do trabalho.

Na determinação da cor dos salames adicionados de diferentes culturas *starters* foi verificado que os valores de L^* diminuíram em todos os tratamentos ao

longo dos 21 dias de fabricação, não sendo observada diferença significativa entre os tratamentos. Este decréscimo representa a formação da cor escura em decorrência de reações de escurecimento (BOZKURT & BAYRAM, 2006). Semelhantemente, Kayaardi & Gök (2003) verificaram que os valores de L^* de salames geralmente decrescem durante o período de maturação.

Os valores de a^* aumentaram durante os primeiros 14 dias e então diminuíram no final do período de fabricação. Durante os primeiros dias de fermentação, o óxido nítrico já presente na carne combina-se com a mioglobina produzindo a nitrosomioglobina (LÜCKE, 1994). Como este pigmento tem coloração vermelha, os valores de a^* aumentaram durante a elaboração do salame. Foi observado valores de a^* nos tratamentos T1 e T2 significativamente maiores que no controle nos dias 3 e 7, devido provavelmente a ação das culturas *starters* presentes, pois de acordo com Terra (1998), a acidificação causada pelas bactérias lácticas acelera a formação de cor e a redução do nitrato a nitrito, causada pelos *Staphylococcus*, aumenta a disponibilidade de NO para reagir com a mioglobina. A possível razão para a diminuição nos valores de a^* no final da maturação pode ser a parcial ou total desnaturação do pigmento nitrosomioglobina devido à produção de ácido láctico (PEREZ-ALVAREZ et al., 1999). Concordando com estes resultados, Kayaardi & Gök (2003) observaram que os valores de a^* de salames aumentaram durante o período de fermentação, e então diminuíram durante a maturação, devido à desidratação.

Os valores de b^* diminuíram em todos os tratamentos durante a fabricação, não sendo observada diferença significativa entre os tratamentos. Estes resultados concordam com os dados obtidos por Perez-Alvarez et al. (1999), que observaram a diminuição dos valores de b^* de salames durante a fermentação e maturação, atribuindo este decréscimo ao consumo de oxigênio pelos microrganismos, e a conseqüente diminuição da oximioglobina, a qual contribui para a coloração amarela.

As análises microbiológicas mostraram que não foi detectada em nenhum tratamento durante todo o período de fabricação dos salames a presença de coliformes fecais e de *Staphylococcus* coagulase positiva. Com relação às bactérias ácido lácticas, foi verificado que no início da fermentação, a contagem no lote controle foi de aproximadamente $4,0 \text{ Log UFC.g}^{-1}$. Já os tratamentos T1 e T2 apresentaram uma contagem inicial de bactérias ácido lácticas superior ao controle,

devido a inoculação de culturas lácticas, apresentando uma contagem de aproximadamente $7,0 \text{ Log UFC.g}^{-1}$. Após 7 dias de fermentação, o lote controle alcançou uma contagem de bactérias ácido lácticas de aproximadamente $8,0 \text{ Log UFC.g}^{-1}$, permanecendo praticamente estável até o final da maturação. Nos tratamentos contendo culturas *starters* (T1 e T2) foi observado uma contagem próxima de $8,0 \text{ Log UFC.g}^{-1}$ após 3 dias de fermentação, diminuindo em aproximadamente um ciclo logarítmico no tratamento T1 no final da maturação, e mantendo-se quase estável no tratamento T2. Estes resultados estão de acordo com Rantsiou & Cocolin (2006), que afirmam que as bactérias ácido lácticas são os microrganismos que dominam a flora microbiana de embutidos fermentados, devido às condições anaeróbicas do meio, presença de cloreto de sódio, nitrato e nitrito, alcançando uma contagem de $7-8 \text{ Log UFC.g}^{-1}$ após três dias de fermentação, permanecendo relativamente sem alterações em número durante todo o período de maturação.

As contagens de *Staphylococcus coagulase negativa* nos tratamentos T1 e T2 apresentaram uma diminuição de aproximadamente um ciclo logarítmico no final do processo de maturação. Este é um comportamento normal destes microrganismos, visto que a diminuição do pH e da concentração de oxigênio são fatores limitantes de seu crescimento (ROIG-SAGUÉS et al., 1999). No entanto, no lote controle, foi verificado um aumento de $3,61 \text{ Log UFC/g}$ para $7,22 \text{ Log UFC/g}$ ao final da maturação. Este aumento pode ser atribuído ao maior valor de pH do lote controle (5,40) comparado aos tratamentos T1 (5,13) e T2 (5,08), já que essas bactérias são sensíveis à acidificação (LEUSCHNER & HAMMES, 1998).

A população inicial de coliformes totais foi menor do que $3,0 \text{ Log UFC.g}^{-1}$ em todos os tratamentos, evidenciando a qualidade higiênico-sanitária da matéria-prima e as boas práticas de fabricação utilizadas na elaboração dos salames. Os coliformes foram eliminados após 7 dias de fabricação nos tratamentos contendo culturas *starters* (T1 e T2), enquanto que no lote controle, esses microrganismos só foram eliminados ao final da maturação. Estes resultados ressaltam a rápida ação inibidora das culturas *starters* frente a microrganismos indesejáveis, conferindo ao produto uma elevada segurança microbiológica.

Na análise sensorial foi observado que de uma maneira geral todos os parâmetros analisados variaram entre gostei muito e gostei moderadamente, não ocorrendo diferença significativa nos atributos de cor, aroma e textura. Houve

diferença significativa apenas para o atributo sabor, onde o tratamento T2 apresentou um maior valor, em comparação com os outros tratamentos, indicando uma maior preferência dos painelistas pelo salame elaborado com a cultura *starter* de *Lactobacillus plantarum* produzida utilizando meio de cultura de plasma suíno.

Neste experimento também foi avaliado o efeito do extrato hidro-alcoólico de marcela nas características de qualidade (pH, atividade de água, cor, perda de peso e aceitabilidade sensorial) e segurança (valores de TBARS) de salames. Foram produzidos salames com dois níveis de extrato de marcela (0,5% e 1%) e salames controle, sem adição de extrato.

Foi observado durante os primeiros sete dias de fabricação, uma diminuição dos valores de pH de 5,80 para aproximadamente 4,95, devido provavelmente ao acúmulo de ácido láctico, formado pelas bactérias ácido lácticas (TERRA, 1998). Após o sétimo dia, os valores de pH aumentaram para em torno de 5,14. Isto pode ser atribuído à produção de amônia e de aminas biogênicas como resultado da atividade enzimática (LÜCKE, 1998). O extrato de marcela não afetou significativamente ($p > 0,05$) os valores de pH durante o período de fabricação dos salames, sugerindo desta forma, que sua adição não ocasiona alterações no processo fermentativo.

A atividade de água diminuiu ao longo da fabricação, atingindo um valor de 0,87 em todos os tratamentos após 19 dias. A análise estatística demonstrou que a adição do extrato de marcela não influenciou significativamente ($p > 0,05$) a atividade de água durante o período de fabricação.

A perda de peso foi de 46,92%, 46,78% e 45,86% no lote controle e nos salames adicionados de 0,5 e 1% de extrato de marcela, respectivamente, não sendo observada diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos. Esses valores foram muito próximos da faixa de 30 a 40%, considerada ideal para produtos fermentados secos (RUST, 1994).

Os valores de L^* , a^* e b^* apresentaram um comportamento semelhante ao observado no primeiro experimento. Os valores de L^* diminuíram em todos os tratamentos ao longo dos 19 dias de fabricação, não sendo observada diferença significativa entre os tratamentos. Os valores de a^* aumentaram durante todo o período de fabricação. A adição de extrato de marcela significativamente reduziu os valores de a^* no início (0 dia) e no 3º dia de fabricação, porém a partir do 7º dia os valores de a^* , apesar de menores nos tratamentos com extrato de marcela, não

diferiram significativamente do controle. Os valores de b^* diminuíram em todos os tratamentos durante a fabricação, não sendo observada diferença significativa entre os tratamentos.

Foi acompanhada a oxidação lipídica dos salames durante o período de armazenamento (90 dias), através do teste de TBARS. Esse teste é o método mais usual para acompanhar a evolução da oxidação lipídica em carnes e produtos cárneos (RAHARJO & SOFOS, 1993). Os valores de TBARS foram significativamente afetados ($p < 0,05$) pela adição de extrato de marcela. No início do armazenamento (0 dia) os valores de TBARS dos tratamentos contendo 0,5 e 1% de extrato de marcela, apresentaram uma diminuição de 26% e 44%, respectivamente, em relação ao controle. Os lotes adicionados de extrato de marcela apresentaram valores significativamente menores que o controle durante todo o período de armazenamento. Após 45 dias de armazenamento, o número de TBARS no tratamento contendo 1% de extrato de marcela foi metade do valor encontrado no controle. Estes resultados mostram que o extrato de marcela retardou a oxidação lipídica durante o período de armazenamento dos salames. Neste experimento foi observado, para todos os tratamentos, um aumento nos valores de TBARS até o 45º dia de armazenamento, e então, um decréscimo. Esta diminuição pode ser atribuída às reações do malonaldeído com proteínas, durante o período de armazenamento (NASSU et al., 2003; SAMMET et al., 2006). Nassu et al. (2003), em um estudo avaliando o efeito de diferentes níveis de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) na estabilidade oxidativa de embutidos fermentados de carne caprina, relataram valores de TBARS com o mesmo comportamento deste estudo, durante um período de armazenamento de 90 dias. Resultados semelhantes também foram relatados por Bozkurt (2006), em um estudo sobre o efeito de diferentes antioxidantes em salames do tipo Turco (“sucuk”) durante a fabricação.

Durante o período de armazenamento, os salames foram analisados sensorialmente a cada 30 dias, avaliando-se a aceitação global. Segundo Labuza & Schmidl (1988), considera-se o final da vida útil do produto quando ocorre uma diminuição de 1,5 pontos na escala hedônica. Neste experimento isto não ocorreu em nenhuma amostra, indicando que todos os tratamentos podem ser considerados aceitáveis até os 90 dias de armazenamento em temperatura ambiente. Não foram encontradas diferenças significativas entre o tratamento contendo 0,5% de extrato de marcela e o controle. No entanto, a adição de 1% de extrato hidro-alcoólico de

marcela diminuiu significativamente a aceitação global, depreciando a qualidade sensorial do produto.

5 CONCLUSÃO

O meio de cultura de plasma suíno é uma alternativa na produção comercial de bactérias ácido lácticas, visto que foi eficiente na multiplicação do microrganismo *Lactobacillus plantarum*.

Os salames elaborados com a cultura *starter* de *Lactobacillus plantarum* produzida em meio de cultura de plasma suíno apresentaram uma queda de pH significativamente mais rápida e uma menor atividade de água que os demais tratamentos, garantindo maior segurança microbiológica. Além disso, a cultura de *Lactobacillus plantarum* melhorou significativamente o sabor dos salames produzidos.

O extrato hidro-alcoólico de marcela mostrou ser efetivo na diminuição da oxidação lipídica dos salames durante o armazenamento. A adição de 0,5% de extrato hidro-alcoólico de marcela não interferiu na aceitação global dos produtos. Portanto, esta concentração pode ser utilizada na elaboração de salames, proporcionando produtos mais seguros para os consumidores.

REFERÊNCIAS

ADAMS, C. A. **Nutricines: food components in health and nutrition**. Nottingham: Nottingham University Press, 1999. 128p.

ADEGOKE, G. O.; KUMAR, M. V.; KRISHNA, A. G. G.; VARADARAJ, M. C.; SAMBAIAH, K.; LOKESH, B. R. Antioxidants and lipid oxidation in foods – a critical appraisal. **Journal of Food Science and Technology**, v. 35, n. 4, p. 283-298, 1998.

AGUIRREZÁBAL, M. M.; MATEO, J.; DOMINGUEZ, M. C.; ZUMALACÁRREGUI, J.M. The effect of paprika, garlic and salt on rancidity in dry sausages. **Meat Science**, v. 54, p. 77-81, 2000.

ALEXANDER, J. C. Biological effects due to changes in fats during heating. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 55, n. 10, p. 711–717, 1978.

ALEXANDER, J. W. Immunonutrition: The role of ω -3 fatty acids. **Nutrition**, v. 14, n. 7-8, p. 627–633, 1998.

AMES, B. M. Dietary carcinogens and anticarcinogens: oxygen radical and degenerative diseases. **Science**, v. 221, p. 1256–1263, 1983.

ANUALPEC 2005 – **Anuário da Pecuária Brasileira**. São Paulo: IFNP, 2005. 340p.

BACUS, J. **Utilization of microorganisms in meat processing**. Letchworth: Research Studies Press Ltd., 1986. 170p.

BACUS, J. Update: meat fermentation 1984. **Food Technology**, v. 38, n. 6, p. 59-69, 1984.

BARBOZA Y.; MARQUEZ, E.; GOMEZ, O.; RANGEL, L. Development of a bovine plasma medium for propagation of lactobacilli. **J. Food Sci. Tech.**, v. 34, n. 2, p. 261-263, 1997.

BERRA, B.; MONTORFANO, G.; RIZZO, A. M. Omega-6 e omega-3: rationale per lo studio del loro rapporto. **Progress in Nutrition**, v. 7, n. 1, p. 24–33, 2005.

BIRCH, A. E.; FENNER, G. P.; WATKINS, R.; BOYD, L. C. Antioxidant proprieties of evening primrose seed extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 4502-4507, 2001.

BOZKURT, H. Utilization of natural antioxidants: Green tea extract and *Thymbra spicata* oil in Turkish dry-fermented sausage. **Meat Science**, v. 73, n. 3, p. 442–450, 2006.

BOZKURT H.; BAYRAM, M. Colour and textural attributes of sucuk during ripening. **Meat Science**, v. 73, n. 2, p. 344–350, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº. 22, de 31 de julho de 2000. **Regulamento técnico de identidade e qualidade de salame**. Publicada no Diário Oficial da União de 03/08/00.

BUCKENHÜSKES, H. J. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as cultures for various food commodities. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 12, p. 253-272, 1993.

BUSANI, S. F. B. Culturas *starters* em carne. In: SILVA, R. Z. M. (Ed). **Aplicação da biotecnologia em produtos cárneos**. Campinas: ITAL, 1990, p. 85-102.

CAPLICE, E.; FITZGERALD, G. F. Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. **International Journal of Food Microbiology**, v. 50, p. 131-149, 1999.

CHANG, S. S.; PETERSON, R. J.; HO, C. T. Chemical reactions involved in the deep-fat frying of foods. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 55, n. 10, p. 718–727, 1978.

CHASCO, J.; LIZASCO, G.; BERIAIN, M. J. Cured colour development during sausage processing. **Meat Science**, v. 44, n. 3, p. 203-211, 1996.

CHEAH, P. B.; HASIM, N. H. A. Natural antioxidant extract from galangal (*Alpinia galanga*) for minced beef. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 80, n.10, p. 1565-1571, 2000.

DE MAN, J. C.; ROGOSA, M.; SHARPE, M. E. A medium for the cultivation of lactobacilli. **J. Appl. Bacteriol.**, v. 23, p. 130–135, 1960.

DESMARCHELIER, C.; COUSSIO, J.; CICCIA, G. Antioxidant and free radical scavenging effects in extracts of the medicinal herb *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. ("marcela"). **Brasilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 31, n. 9, p. 1163-1170, 1998.

DI CARLO, G.; MASCOLO, N.; IZZO, A. A.; CAPASSO, F. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutics drugs. **Life Sciences**, v. 65, n. 4, p. 337–353, 1999.

DURÁN, R. M.; PADILLA, R. B. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos. **Grasas y Aceites**, v. 44, n. 2, p. 101-106, 1993.

ERKKILÄ, S. **Bioprotective and probiotic meat starter cultures for the fermentation of dry sausages**. 2001. 64f. PhD Dissertation. University of Helsinki, Helsinki, 2001.

FERNÁNDEZ, M.; ORDÓÑEZ, J.A .; BRUNA, J. M .; HERRANZ, B.; HOZ, L. Accelerated ripening of dry fermented sausages. **Food Science & Technology**, v. 11, p. 201-209, 2001.

FERRARO, E. G.; NORBEDO, C.; COUSSIO, J. Polyphenols from *Achyrocline satureioides*. **Phytochemistry**, v. 20, n. 8, p. 2053-2054, 1981.

FLORES, J.; BERMELL, S. Dry-cured sausages – Factors influencing souring and their consequences. **Fleischwirtsch**, v. 76, n. 2, p. 163-165, 1996.

FRANKEL, E. N. Recent advances in lipid oxidation. A review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 54, p. 495–511, 1991.

GARDNER, H. W. Lipid hydroperoxide reactivity with proteins and amino acids: a review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 27, p. 220–229, 1979.

GONZÁLES-FERNÁNDEZ, C.; SANTOS, E. M.; ROVIRA, J.; JAIME, I. The effect of sugar concentration and *starter* culture on instrumental and sensory textural properties of chorizo-Spanish dry-cured sausage. **Meat Science**, v. 74, n. 3, p. 467-475, 2006.

GUGLIUCCI, A.; MENINI, T. Three different pathways for human LDL oxidation are inhibited in vitro by water extracts of the medicinal herb *Achyrocline satureioides*. **Life Sciences**, v. 71, n. 6, p. 693-705, 2002.

HAMMES, W.; HERTEL, C. New developments in meat *starter* cultures. **Meat Science**, v. 49, n. 1, p. 125-138, 1998.

HARBONE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, v. 55, p. 481–504, 2000.

HORN, S. J.; ASPMO, S. I.; EIJSINK, V. G. H. Growth of *Lactobacillus plantarum* in media containing hydrolysates of fish viscera. **Journal of Applied Microbiology**, v. 99, n. 5, p. 1082-1089, 2005.

HUGAS, M.; MONFORT, J. M. Bacterial *starter* cultures for meat fermentation. **Food Chemistry**, v. 59, n. 4, p. 547-55, 1997.

HYUN, C. K.; SHIN, H. K. Utilization of bovine blood plasma obtained from a slaughterhouse for economic production of probiotics. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v. 86, n. 1, p. 34-37, 1998.

ISHIGE, K.; SCHUBERT, D.; SAGARA, Y. Flavonoids protect neuronal cells from oxidative stress by three distinct mechanisms. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 30, n. 4, p. 433–446, 2001.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711p.

JESSEN, B. *Starter* cultures for meat fermentations. In: CAMPBELL-PLATT, G.; COOK, P. E. (Org.). **Fermented Meats**. London: Blackie Academic Professional, 1995, p.130-159.

KÄHKÖNEN, M. P.; HOPIA, A. I.; VUORELA, H. J.; RAUHA, J. P.; PIHLAJA, K.; KUJALA, T. S.; HEINONEN, M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. **J. Agric. Food Chem.**, v. 47, p. 3954-3962, 1999.

KANATT, S. R.; CHANDER, R.; RADHAKRISHNA, P.; SHARMA, A. Potato peel extract – a natural antioxidant for retarding lipid peroxidation in radiation-processed lamb meat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 5, p. 1499–1504, 2005.

KANATT, S. R.; CHANDER, R.; SHARMA, A. Effect of irradiated chitosan on the rancidity of radiation-processed lamb meat. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 39, n. 9, p. 997–1003, 2004.

KARPINSKA, M.; BOROWSKI, J.; DANOWSKA-OZIEWICZ, M. The use of natural antioxidants in ready-to-serve food. **Food Chemistry**, v. 72, n. 1, p. 5-9, 2001.

KAYAARDI, S.; GÖK, V. Effect of replacing beef fat with olive oil on quality characteristics of Turkish soudjouk (sucuk). **Meat Science**, v. 66, n. 1, p. 249–257, 2003.

KUBOW, S. Toxicity of dietary lipid peroxidation products. **Trends in Food Science and Technology**, v. 1, p. 67–71, 1990.

LABUZA, T. P.; SCHIMDL, M. K. Use of sensory data in the shelf life testing of foods: principles and graphical methods for evaluation. **Cereals Foods World**, v. 33, n. 2, p. 193–206, 1988.

LAITILA, A.; SAARELA, M.; KIRK, L.; SIIKA-AHO, M.; HAIKARA, A.; MATTILA-SANDHOLM, T.; VIRKAJÄRVI, I. Malt sprout extract medium for cultivation of *Lactobacillus plantarum* protective cultures. **Letters in Applied Microbiology**, v. 39, n. 4, p. 336-340, 2004.

LEUSCHNER, R. G. K.; HAMMES, W. P. Tyramine degradation by micrococci during ripening of fermented sausage. **Meat Science**, v. 49, n. 3, p. 289–296, 1998.

LIZASO, G.; CHASCO, J.; BERIAIN, M. J. Microbial and biochemical changes during ripening of salchichón, a Spanish dry cured sausage. **Food Microbiology**, v. 16, n. 3, p. 219-228, 1999.

LÜCKE, F. K. Utilization of microbes to process and preserve meat. **Meat Science**, v. 56, n. 2, p.105-115, 2000a.

LÜCKE, F. K. Fermented meats. In: LUND, B.M.; BAIRD-PARKER, A.C.; GOULD, G.W. (Org.). **The microbiology safety and quality of food**. Gaithersburg: Aspen Publ., 2000b. Cap. 19, p. 420-444.

LÜCKE, F. K. Fermented sausages. In: WOOD B. J. B (Org.). **Microbiology of fermented foods**. 2nd ed, London: Blackie Academy Professional, 1998, v. 2, p. 441-483.

LÜCKE, F. K. Fermented meat products. **Food Research International**, v. 27, n. 3, p. 299-307, 1994.

MÁRQUEZ, E.; BRACHO, M.; ARCHILE, A.; RANGEL, L.; BENÍTEZ, B. Proteins, isoleucine, lysine and methionine content of bovine, porcine and poultry blood and their fractions. **Food Chemistry**, v. 93, n. 3, p. 503–505, 2005.

MCCARTHY, T. L.; KERRY, J. P.; KERRY, J. F.; LYNCH, P. B.; BUCKLEY, D. J. Evaluation of the antioxidant potential of natural food/plant extracts as compared with synthetic antioxidants and vitamin E in raw and cooked pork patties. **Meat Science**, v. 58, n. 1, p. 45-52, 2001.

MEHTA, R. L.; ZAYAS, J. F.; YANG, S. S. Ajowan as a source of natural lipid antioxidant. **J. Agric. Food Chem.**, v. 42, p. 1420-1422, 1994.

MELO, E. A., GUERRA, N. B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Boletim do SBCTA**, v. 36, n. 1, p.1-11, 2002.

MILO OHR, L. Where flavor “meats” health trend. **Prepared foods**, v. 168, p. 49-50, 1999.

MORAES, M. A. C. **Métodos para avaliação sensorial dos alimentos**. 6^a ed. Campinas: UNICAMP, 1988. 93p.

MOTTRAM, D. S. Flavour formation in meat and meat products: A review. **Food Chemistry**, v. 62, p. 415-424, 1998.

MOURE, F.; RENDUELES, M.; DÍAZ, M. Aprovechamiento del plasma procedente de sangre de mataderos. **Alimentaria**, v. 36, n. 290, p. 41–50, 1998.

NASSU, R. T. **Utilização de carne de caprinos no processamento de embutido fermentado, tipo salame**. 1999. 154f. Tese (Doutorado em Tecnologia dos Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1999.

NASSU, R. T.; GONÇALVES, L. A. G.; BESERRA, F. J. Utilização de diferentes culturas *starter* no processamento de embutido fermentado de carne de caprinos. **Ciência Rural**, v. 32, n. 6, p. 1051-1055, 2002.

NASSU, R. T.; GONÇALVES, L. A. G.; DA SILVA, M. A. A. P.; BESERRA, F. J. Oxidative stability of fermented goat meat sausage with different levels of natural antioxidant. **Meat Science**, v. 63, n. 1, p. 43–49, 2003.

NAWAR, W. W. Lipids. In: FENNEMA, O. R. (Org.). **Food chemistry**. 3rd ed. New York: Marcel Dekker, 1996. p. 225-319.

NEWBURG, D. S.; CONCON, J. M. Malonaldehyde concentrations in food are affected by cooking conditions. **Journal of Food Science**, v. 45, n. 6, p. 1681–1687, 1980.

OHSHIMA, H.; YOSHIE, Y.; AURIOL, S.; GILIBERT, I. Antioxidant and pro-oxidant actions of flavonoids: effects on DNA damage induced by nitric oxide, peroxyxynitrite and nitroxyl anion. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 25, n. 9, p. 1057–1065, 1998.

ORDOÑEZ, J. A. P.; RODRÍGUEZ, M. I. C.; ÁLVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLÓN, G. D. G. F.; PERALES, L. H.; CORTECERO, M. D. S. **Tecnología de Alimentos: Alimentos de Origen Animal**. Vol. 2. Porto Alegre: Artmed, 2005. 279p.

ORDÓÑEZ, J. A.; CAMBERO, M. I.; FERNÁNDEZ, L.; GARCÍA, M. L.; HOZ, G. G. L.; SELGAS, D. **Tecnología de los Alimentos**. Vol. 2. Madrid: Síntesis, 1998. 366p.

OSAWA, C. C.; FELÍCIO, P. E.; GONÇALVES, L. A. G. Teste de tba aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. **Química Nova**, v. 28, n. 4, p. 655-663, 2005.

PALMFELDT, J.; HAHN – HÄGERDAL, B. Influence of culture pH on survival of *Lactobacillus reuteri* subjected to freeze-drying. **International Journal of Food Microbiology**, v. 55, n. 1-3, p. 235–238, 2000.

PANIANGVAIT, P.; KING, A. J.; JONES, A. D.; GERMAN, B. G. Cholesterol oxides in foods of animal origin. **Journal of Food Science**, v. 60, n. 6, p. 1159–1174, 1995.

PARDI, M. C.; SANTOS, I. F.; SOUZA, E. R.; PARDI, H. S. **Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne**. Goiânia: UFG, Vol. 2, 1996. 1110p.

PEREZ-ALVAREZ, J. A.; SAYES-BARBARE, M. E.; FERNANDEZ-LOPEZ, J.; ARANDA-CATALA, V. Physicochemical characteristics of Spanish type dry-cured sausage. **Food Research International**, v. 32, n. 9, p. 599–607, 1999.

POKORNÝ, J. Natural antioxidants for food use. **Trends in Food Science and Technology**, v. 2, n. 9, p. 223-227, 1991.

PRANDL, O.; FISCHER, A.; SCHMIDNOFER, T. & SMELL, H. J. **Tecnología e Higiene de la Carne**. Zaragoza: Acribia, 1994, 854p.

PRATT, D. E. Natural antioxidants from plant material. In: HUANG, M. T.; HO, C. T.; LEE, C. Y (Org.). **Phenolic compounds in food and their effects on health**. Washington: American Chemical Society, 1992. p.54-71.

PRICE, J. F.; SCHWEIGERT, B. S. **Ciencia de la carne y de los productos carnicos**. 2nd ed., Zaragoza: Acribia, 1994. 581p.

RAHARJO, S.; SOFOS, J. N.; SCHMIDT, G. R. Improved speed, specificity and limit of determination of an aqueous acid extraction thiobarbituric acid-C₁₈ method for measuring lipid peroxidation in beef. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, n. 2, p. 2182-2185, 1992.

RAHARJO, S.; SOFOS, J. N. Methodology for measuring malonaldehyde as a product of lipid peroxidation in muscle tissues: A review. **Meat Science**, v. 35, n. 2, p. 145-169, 1993.

RANTSIOU, K.; COCOLIN, L. New developments in the study of the microbiota of naturally fermented sausages as determined by molecular methods: A review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 108, n. 2, p. 255-267, 2006.

RESURRECCION, A. V. A.; REYNOLDS, A. E. Evaluation of natural antioxidants in frankfurters containing chicken and pork. **Journal of food science**, v. 55, n. 3, p. 629-654, 1990.

RHEE, K. S. Chemistry of meat flavor. In: MIN, D. B.; SMOUSE, T. H. (Org.). **Flavor chemistry of lipid foods**. Champaign: AOCS, 1989. 462p.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; BOLWELL, P. G.; BRAMLEY, P. M.; PRIDHAM, J. B. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. **Free Radical Res.**, v. 22, n. 4, p. 375-383, 1995.

RÖDEL, W.; STIEBING, A. Continuous measurement of the ripening pattern of dry sausage. **Fleischwirtschaft**, v. 68, p. 1423-1426, 1988.

ROIG-SAGUÉS, A. X.; HERNÁNDEZ-HERRERO, M. M.; LÓPEZ-SABATER, E. I.; RODRÍGUEZ-JEREZ, J. J.; MORA-VENTURA, M. T. Microbiological events during the elaboration of “fuet”, a Spanish ripened sausage. **European Food Research and Technology**, v. 209, n. 2, p. 108–112, 1999.

ROSE, D. P.; CONNOLLY, J. M. Omega 3 fatty acids as cancer chemopreventive agents. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 83, n. 3, p. 217–244, 1999.

ROSS, R.P.; MORGAN, S.; HILL, C. Preservation and fermentation: past, present and future. **International Journal of Food Microbiology**, v. 79, n. 1-2, p. 3-16, 2002.

RUST, R. E. Productos Embutidos. In: PRICE, J. F., SCHWEIGERT, B. S. (Org.). **Ciencia de La Carne y de Productos Carnicos**. 2nd ed. Zaragoza: Acribia, 1994, p. 415-440.

SAMMET, K.; DUEHLMEIER R.; SALLMANN H. P.; VON CANSTEIN C.; VON MUEFFLING T.; NOWAK B. Assessment of the antioxidative potential of dietary supplementation with α -tocopherol in low-nitrite salami-type sausages. **Meat Science**, v. 72, n. 2, p. 270–279, 2006.

SAS. **Sas Institute Inc**. Cary, NC, 1996.

SAWITZKI, M. C. **Caracterização de bactérias ácido lácticas isoladas de salames artesanais e aplicadas como cultivos iniciadores em salame tipo Italiano**. 2000. 60f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2000.

SCHMIDT, S.; BERGER, R. G. Aroma compounds in fermented sausages of different origins. **Lebensm-Wiss u-Technology**, v. 31, p. 559-567, 1998.

SILVEIRA, E.T.F.; ANDRADE, J. **Aspectos tecnológicos de processamento e qualidade de embutidos fermentados**. Campinas: FEA/UNICAMP, 1991.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 3^a ed. revisada. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. UFSC/ Ed. da UFRGS, 2001, 833p.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; BAUER, L.; LANGELOH, A. Pharmacological investigations on *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC., compositae. **Journal of ethnopharmacology**, v. 22, n. 3, p. 281-293, 1988.

SINGH, R. P. Scientific principles of shelf life evaluation. In: MAN, C. M. D.; JONES, A. A. (Org.). **Shelf life evaluation of foods**. Suffolk: Chapman & Hall, 1996, p. 3-26.

SLUIS, A. A.; DEKKER, M.; JAGER, A.; JONGEN, W. M. F. Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple: effect of cultivar, harvest year, and storage conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 3606-3613, 2001.

SIQUEIRA, S. **Manual de microbiologia de alimentos**. Brasília: Embrapa, 1995. 159p.

SUMMO, C.; CAPONIO, F.; PASQUALONE, A. Effect of vacuum-packaging storage on the quality level of ripened sausages. **Meat Science**, v. 74, n. 2, p. 249-254, 2006.

TERRA, A. B. M. **Inovações na fabricação de embutidos curados**. 2003. 168f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2003.

TERRA, N. N. TERRA, A. B. M.; TERRA, L. M. **Defeitos nos Produtos Cárneos: Origens e Soluções**. São Paulo: Varela, 2004. 88p.

TERRA, N. N. **Apontamentos de tecnologia de carnes**. São Leopoldo: Editora Unisinos, 1998. 216p.

TERRA, N. N.; BRUM, M. A. R. **Carne e seus derivados** – técnicas de controle de qualidade. São Paulo: Nobel, 1988. 121p.

TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; GIL, M. I.; CREMIN, P.; WATERHOUSE, A. L.; PIERCE, B. H.; KADER, A. A. HPLC-DAD-ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches, na plums. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 4748-4760, 2001.

TSALIKI, E.; LAGOURI, V.; DOXASTAKIS, G. Evaluation of the antioxidant activity of lupin seed flour and derivatives (*Lupinus albus* ssp. Graecus). **Food Chemistry**, v. 65, p. 71-75, 1999.

TTYÖPPÖNEN, S.; PETÄJÄ, E.; MATTILA-SANDHOLM, T. Bioprotectives and probiotics for dry sausages. **International Journal of Food Microbiology**, v. 83, p. 233-244, 2003.

VIGNOLO, G. M.; RUIZ HOLGADO, A. A. P.; OLIVER, G. Cultivos *starters* en la industria cárnea. **La Industria Cárnica Latinoamericana**, v. 98, p. 27-34, 1995.

VINSON, J. A.; SU, X.; ZUBIK, L.; BOSE, P. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 5315-5321, 2001.

WANG, S. Y.; ZHENG, W. Effect of plant growth temperature on antioxidant capacity in strawberry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 4977-4982, 2001.

WATANABE, M. J. Catechins as antioxidants from buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 3, p. 839-845, 1998.

YAMADA, E. A.; BERAQUET, N. J. Embutido fermentado cozido. **Col. Inst. Tecnol. Alim.**, v.23, p.19-27, 1993.

YAMAMOTO, N.; MOON, J.; TSUSHIDA, T.; NAGAO, A.; TERAQ, J. Inhibitory effect of quercetin metabolites and their related derivatives on copper ion-induced lipid peroxidation in human low-density lipoproteins. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 372, n. 2, p. 347–354, 1999.

YILDIRIM, A.; MAVI, A.; KARA, A. A. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 4083-4089, 2001.

ZHANG, J.; GREASHAM, R. Chemically defined media for commercial fermentations. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, v. 51, n. 4, p. 407-421, 1999.

ZHENG, W.; WANG, S. Y. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 5165-5170, 2001.