

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos



Dissertação

**CULTURAS INICIADORAS (*Lactobacillus plantarum* AJ2 e
Staphylococcus xylosus U5) NAS PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS
DE EMBUTIDO PRODUZIDO COM ASSOCIAÇÃO DE CARNE SUÍNA E
DE FRANGO**

FÁBIO JOSÉ MATTEI

Pelotas, 2014

FÁBIO JOSÉ MATTEI

Culturas iniciadoras (*Lactobacillus plantarum* AJ2 e *Staphylococcus xylosus* U5) nas propriedades tecnológicas de embutido produzido com associação de carne suína e de frango

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, como requisito à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Dr^a. Ângela Maria Fiorentini

Co-Orientador: Dr. Wladimir Padilha da Silva

Pelotas, 2014

Dados de catalogação na fonte:
Ubirajara Buddin Cruz – CRB 10/901
Biblioteca de Ciência & Tecnologia - UFPel

M435c Mattei, Fábio José

Culturas iniciadoras (*Lactobacillus plantarum* AJ2 e *Staphylococcus xylosus* U5) nas propriedades tecnológicas de embutido produzido com associação de carne suína e de frango / Fábio José Mattei. – 78f. : il. – Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Pelotas, 2014. – Orientador Ângela Maria Fiorentini ; co-orientador Wladimir Padilha da Silva.

1.Carne de frango. 2.*Lactobacillus plantarum*.
3.*Staphylococcus xylosus*. 4.Embutido fermentado.
5.Compostos voláteis. I.Fiorentini, Ângela Maria. II.Silva, Wladimir Padilha da. III.Título.

Banca Examinadora:

Dr^a. Ângela Maria Fiorentini (Presidente)

Dr^a. Maristela Cortez Sawitzki (Membro)

PhD. Fábio C. Chaves (Membro)

Dr. Celso Medina Fagundes (Membro)

AGRADECIMENTOS

A Deus e ao universo por permitirem que o curso de minha vida passasse por esta etapa de aprendizado.

Aos meus familiares pelo incondicional amor e apoio.

A minha orientadora professora Dr^a. Ângela Maria Fiorentini por me orientar durante a pesquisa e pelos conhecimentos transmitidos, confiança, amizade e apoio.

Ao professor Dr. Wladimir Padilha da Silva, pela disponibilidade do laboratório de Microbiologia, e pelos ensinamentos transmitidos.

A Universidade Federal de Pelotas, especialmente ao Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, bem como a todos os colegas e professores.

A Unidade da Embrapa Suínos e Aves, especialmente a toda a equipe do Laboratório de Análises físico-químicas.

As pesquisadoras Teresinha Marisa Bertol e Vivian Feddern da Embrapa Suínos e Aves, bem como aos analistas Anildo, Vicky e Letícia pela disponibilidade e orientação nos momentos de dúvidas durante a execução do experimento.

Ao Instituto Federal Catarinense Campus Concórdia, especialmente a professora Sheila e sua equipe de estagiárias (Mariane, Karine, Maria, Marina, Kedina, Juliana, Eduarda) pelo apoio durante a execução do experimento, bem como a técnica Andréia pela colaboração.

Ao responsável pela planta de processamento do IF Campus Concórdia Thiago, assim como ao Grando e Dirceu, pelo auxílio na elaboração do embutido e nas coletas.

Aos meus colegas de pesquisa do Laboratório de Microbiologia de Alimentos especialmente a Graci, Ana, Jú, e Guilherme, pela colaboração na obtenção dos micro-organismos.

Aos amigos Fábio Luiz (Xará) e Anildo, por terem despertado em mim a vontade de atuar na pesquisa.

RESUMO

MATTEI, F. J. **Culturas iniciadoras (*Lactobacillus plantarum* AJ2 e *Staphylococcus xylosus* U5) nas propriedades tecnológicas de embutido produzido com associação de carne suína e de frango.** 2014. 78f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

No Brasil as carnes mais produzidas e, conseqüentemente, mais processadas, são as carnes de frango e suínos. O processo de fabricação de embutidos fermentados se baseia na fermentação, que depende de micro-organismos (culturas iniciadoras) para realizá-la. A indústria brasileira utiliza culturas iniciadoras importadas. O objetivo desta pesquisa foi monitorar a viabilidade de culturas iniciadoras nativas (bioma local) em embutido fermentado elaborado a partir da associação de carne suína e de frango, verificar a sua contribuição tecnológica na acidificação e formação de compostos voláteis, bem como verificar a aceitação sensorial do embutido. Foram realizados três tratamentos, tratamento (T0), sem adição de culturas iniciadoras, tratamento (T1) inoculado com culturas nativas, e tratamento (T2), inoculado com culturas comerciais. As amostras foram monitoradas desde a fabricação até o término da maturação (35 dias). As culturas iniciadoras adicionadas se mantiveram viáveis durante o período de fermentação/maturação do embutido. Nas análises físico-químicas, o pH do T1 teve queda mais acentuada durante o período de fermentação do que o T0 e T2. O tratamento T2 apresentou uma a_w final significativamente maior ($p < 0,05$) que os tratamentos T0 e T1. Quanto aos valores de acidez o tratamento T0 apresentou resultados significativamente inferiores ($p < 0,05$) aos apresentados pelos tratamentos T1 e T2. Os resultados no produto final (35 dias de maturação) de composição centesimal, quebra de peso, força de cisalhamento, nitrito residual, cor, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico e sódio residual, não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os tratamentos. Quanto ao perfil de compostos voláteis, foram identificados em todos os tratamentos além de terpenos e compostos sulfurados, também aldeídos, alcoóis, cetonas, ácidos, éteres e ésteres, todavia o tratamento T2 diferiu dos demais devido ao percentual de área relativamente inferior dos ácidos e álcoois. Em conclusão, as culturas nativas sobreviveram no embutido, contribuindo da mesma forma que as culturas comerciais para propriedades tecnológicas desejadas.

Palavras-chave: Carne de frango. *Lactobacillus plantarum*. *Staphylococcus xylosus*. Embutido fermentado. Compostos voláteis.

ABSTRACT

MATTEI, F. J. **Starter cultures (*Lactobacillus plantarum* AJ2 and *Staphylococcus xylosus* U5) on technological properties of sausage produced with a combination of pork and chicken meat.** 2014. 78 f. Dissertation (Master in Food Science and Technology) – Postgraduate Program in Food Science and Technology. Federal University of Pelotas.

Chicken meat and pork are among the main processed meats in Brazil and also are the more consumed. The manufacturing process of fermented sausages is based on fermentation, which depends on micro-organisms (starter culture) to perform it. The Brazilian industry uses imported starter cultures. The objective of this research was to monitor the viability of native starter cultures (local biome) in fermented sausage prepared from the combination of pork and chicken meat, verify their technological contribution to acidity and development of volatile compounds, as well verify the sensory acceptance of the sausages. Three treatments, treatment T0 without addition of starter cultures, treatment T1 inoculated with native cultures, and treatment T2, inoculated with commercial culture were tested. The samples were monitored from manufacturing to the end of ripening (35 days). The added starter cultures remained viable during sausage fermentation/ripening. In the physico-chemical analysis, pH of T1 showed sharper drop during fermentation time than T0 and T2. Regarding water activity, T2 significantly differed ($p < 0.05$) from T0 and T1 treatments, presenting higher value. The acidity values of T0 showed significantly ($p < 0.05$) lower results than those observed for T1 and T2. The results of centesimal composition, weight loss, texture, residual nitrite, color, thiobarbituric acid reactive substances and residual sodium showed no significant difference ($p > 0.05$) among treatments in the final product (35 days ripening). Regarding volatile compounds, the profile, it has been identified in all treatments terpenes and sulfur compounds and others such as aldehydes, alcohols, ketones, acids, ethers and esters, but T2 treatment differed from the others by the relatively lower percentage area observed for acids and alcohols. In conclusion native cultures were able to survive in sausages, as well as commercial cultures contributing to the desired technological properties.

Keywords; Chicken meat. *Lactobacillus plantarum*. *Staphylococcus xylosus*. Fermented sausage. Volatile compounds.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Esquema geral de fermentação da glicose pelas bactérias láticas.....	17
Figura 2	Representação esquemática das principais características tecnológicas do <i>Staphylococcus xylosus</i>	21
Figura 3	Fluxograma de produção de embutido fermentado.....	24
Figura 4	Reações químicas características da formação da cor dos produtos cárneos curados.....	26
Figura 5	Uso do amostrador de SPME para o processo de extração e de dessorção do material extraído para injeção no CG.....	29
Figura 6	Demonstrativo da variação do pH nos tratamentos durante período de fermentação/maturação do embutido.....	48
Figura 7	Demonstrativo da variação de acidez nos tratamentos durante período de fermentação/maturação do embutido.....	49
Figura 8	Demonstrativo da variação de a_w nos tratamentos durante período de fermentação/maturação do embutido.....	50
Figura 9	Demonstrativo da variação de quebra de peso nas peças dos tratamentos durante período de fermentação/maturação do embutido.....	51
Figura 10	Contagens de BAL durante período de fermentação/maturação do embutido.....	62
Figura 11	Contagens de CNS durante período de fermentação/maturação do embutido.....	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Principais micro-organismos utilizados como iniciadores na produção de embutidos.....	19
Tabela 2	Controle das variáveis físicas da câmara de maturação pelas indústrias.....	25
Tabela 3	Variações físico-químicas durante período de fermentação/maturação do embutido.....	54
Tabela 4	Variações de cor aos 35 dias de fermentação/maturação do embutido.....	55
Tabela 5	Identificação e quantificação relativa (%) dos compostos voláteis identificados aos 35 dias de maturação do embutido.....	57

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	9
REVISÃO DE LITERATURA.....	12
REFERÊNCIAS.....	31
CAPÍTULO 1 - Influência de <i>L. plantarum</i> AJ2 e <i>S. xylosus</i> U5 na fermentação e no perfil volátil de embutido produzido com associação de carne suína e de frango.....	37
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	73
APÊNDICES.....	74

1 INTRODUÇÃO

Segundo dados do MAPA (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento) referentes ao ano de 2013, no Brasil em 2012, o consumo *per capita* de carnes estimado foi de 43,9 kg de carne de aves, 37,4 kg para carne bovina e 14,1 kg de carne suína, ainda de acordo com projeções feitas pelo MAPA para o período entre 2013 e 2023 além da carne de frango continuar sendo a mais produzida no país, à mesma apresentará um aumento na produção de 46,4% (BRASIL, 2013).

Em relação à carne de aves, o Brasil é o maior exportador e o terceiro maior produtor do mundo, chegando à exportação de 4 milhões de toneladas e produção de 12 milhões de toneladas (DESOUZART, 2012). Segundo estimativas do mesmo autor o consumo de carne de aves no Brasil para 2019 será próximo a 51 kg *per capita*. O aumento no consumo já era previsto por Pilarsky (2007), atribuindo como causa mais provável, o baixo preço da carne de aves frente às outras carnes e a gama mais variada de produtos à base de frangos.

Com o objetivo de agregar valor a carne e, visando ampliar a diversidade de produtos, observada a necessidade de conservação da carne e aproveitamento das matérias-primas disponíveis, como é o caso da carne de frango no Brasil, uma alternativa possível é a produção de embutidos.

Desde o início dos tempos o homem busca métodos para a conservação de seus alimentos. No caso da conservação da carne podemos citar a salga, a secagem e a fermentação, sendo que a fermentação é um processo utilizado na produção de salames. A legislação brasileira define salame como o produto cárneo industrializado 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. Deste modo em conformidade com o regulamento técnico de identidade e qualidade do salame, a adição de outras carnes estará caracterizando o mesmo como um embutido fermentado (BRASIL, 2000).

Uma vez que a fermentação faz parte da produção de embutidos fermentados, e depende de micro-organismos para realizá-la, o emprego de culturas

iniciadoras em embutidos cárneos fermentados visa à obtenção de produtos seguros microbiologicamente, padronizados e com melhores aspectos sensoriais (ESSID et al., 2007).

Terra (1998) destaca que as culturas iniciadoras usadas na produção de salames no Brasil são importadas de outros países, sendo que as culturas estão relacionadas com o *flavor* do embutido, isso pode levar ao desaparecimento do sabor genuinamente brasileiro, o qual é oriundo da fermentação por bactérias lácticas nativas.

A aceitação de produtos cárneos depende em grande parte das suas propriedades organolépticas, determinadas principalmente pelo sabor e aroma, este último decorrente de compostos voláteis. No caso de produtos como o salame, o aroma é oriundo de uma gama de compostos presentes nos condimentos e na matéria prima, nas etapas de fermentação e maturação do produto. Durante a maturação as enzimas endógenas, enzimas microbianas e reações químicas são responsáveis pela transformação destes compostos em compostos voláteis (WAGNER, 2008).

Devido à produção de bacteriocinas, atividade lipolítica e proteolítica *Staphylococcus xylosus* é apontado como uma das importantes culturas iniciadoras na fabricação de embutidos fermentados (ESSID et al., 2007; FIORENTINI et al., 2009, 2010). *Lactobacillus plantarum* por sua vez, é importante na fermentação devido a sua habilidade de produzir ácido láctico como maior produto da fermentação (SAWITZKI et al., 2007a, 2008, 2009).

Culturas iniciadoras para serem aplicadas em alimentos não devem ser patogênicas, tóxicas nem alergênicas; devem possuir fenótipo e genótipo estáveis; devem ser competitivas em condições típicas do processo (tolerância ao sal, nitrito, baixo pH e atividade de água, temperatura de processo) devem fornecer alguns benefícios tecnológicos (na acidificação, preservação, formação do *flavor*, garantia da qualidade), e ser identificáveis por métodos específicos (HAMMES; HERTEL, 1998).

Considerando a importância da obtenção de culturas iniciadoras a partir da microbiota natural, Sawitzki et al. (2007a) e Fiorentini, et al. (2009), isolaram a partir de embutidos naturalmente fermentados na região Sul do Brasil *Lactobacillus*

plantarum AJ2 e *Staphylococcus xylosus* U5, caracterizaram-as e confirmaram a possibilidade de seu uso como culturas iniciadoras na produção de salame tipo Milano (SAWITZKI et al., 2008; FIORENTINI et al., 2010).

Diante do exposto de que, a carne de frango é a mais produzida e mais consumida que as carnes bovina e suína e, que as culturas iniciadoras utilizadas pela indústria brasileira na produção de salame são importadas, buscou-se desenvolver um embutido fermentado por culturas iniciadoras nativas com associação de carnes suína e de frango. O objetivo desta pesquisa foi monitorar a viabilidade de culturas iniciadoras nativas (bioma local) em embutido fermentado elaborado a partir da associação de carne suína e de frango, verificar a sua contribuição tecnológica na acidificação e formação de compostos voláteis, bem como verificar a aceitação sensorial do embutido desenvolvido nesta pesquisa.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Contextualização do mercado

De acordo com dados do MAPA (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento), o Brasil produziu 3,5 e 14 milhões de toneladas de carne suína e de frango respectivamente, sendo que aproximadamente 70% da produção de carne de frango é consumida no mercado interno. Ainda de acordo com projeções feitas pelo MAPA, para o período entre os anos de 2013 a 2023 além da carne de frango continuar sendo a mais produzida no país, a mesma apresentará um aumento na produção de 46,4%, enquanto a carne suína projeta um aumento de 20,6% (BRASIL, 2013).

O consumo de carne suína no Brasil é inferior ao das carnes de frango e bovina. O consumo ocorre preferencialmente através de produtos processados em detrimento da carne suína *in natura* (MIELE, MACHADO, 2010).

Em relação à carne de aves, o Brasil é o maior exportador e o terceiro maior produtor do mundo, chegando a exportação de 4 milhões de toneladas (DESOUZART, 2012). Segundo estimativas do mesmo autor o consumo de carne de aves, no Brasil, que nos dias atuais encontra-se em 48 kg *per capita*, passará para 51 kg *per capita* em 2019.

Pilarsky (2007) já previa esse aumento no consumo da carne de frango atribuindo tal desempenho ao fato da carne de frango ser aceita por todos os povos e religiões e possuir baixo preço quando comparada a outras carnes.

Terra (1998) aponta que a carne de frango está entre as matérias-primas mais usadas pela indústria brasileira na elaboração de produtos cárneos, juntamente com a bovina e suína.

Segundo Rosenvold e Andersen (2003), a carne suína que é utilizada na fabricação de embutidos, possui como principais atributos suas características sensoriais (aparência, cor, sabor, textura e suculência), e também algumas características fundamentais para o processamento (pH, capacidade de retenção de

água e estabilidade oxidativa), porém estas podem variar de acordo com raça do animal abatido, método de insensibilização, manejo pré-abate, resfriamento e outras.

Com a constante evolução no processamento de alimentos, e a crescente preocupação das indústrias em aumentarem o valor nutricional dos seus produtos, diversas fontes de nutrientes tradicionais vêm sendo estudadas, sendo que um desses alimentos é a carne de frango (OLIVO, 2006).

Para Cava (2007), a carne de frango é importante fonte de proteínas de alta qualidade, vitamina B e também sais, estes fatos contribuem para que esta carne tenha uma maior aceitabilidade perante os consumidores.

Atualmente, no Brasil a carne de frango é comercializada na sua grande maioria em cortes frescos ou congelada, carcaças, e também, em embutidos similares a carne bovina e suína (frescais, defumados, fermentados etc.) sendo que a indústria ainda busca novas alternativas para a agregação de valor na carcaça ou na carne de frango (PILARSKY, 2007).

Neste sentido, vários autores estudam a possibilidade de utilizar o processo de fermentação como uma alternativa para agregação de valor à carne de frango (CAVENAGUI, 2005; PILARSKI, 2007).

2.2 Características gerais de embutidos fermentados

Ebutidos fermentados caracterizam-se por baixo teor de umidade, baixa atividade de água e, concentração de ácido láctico nas devidas proporções que conferem ao embutido um sabor agradável. No processamento destes produtos é utilizada a combinação de vários métodos de conservação que visam à diminuição de atividade de água, queda de pH, e conseqüente conservação sem o uso de frio (YAMADA; BERAQUET, 1993 *apud* NASSU, 1999).

Segundo os padrões de identidade e qualidade do salame (Brasil, 2000), este produto deve apresentar alguns parâmetros físico-químicos, como teor mínimo de 20% de proteína, máximo 0,92 de atividade de água, máximo de 40% de umidade, máximo de 35% de gordura, e máximo de 1,5% de carboidratos totais.

Com a finalidade de evitar riscos à saúde do consumidor, a legislação brasileira, estabelece padrões microbiológicos sanitários para produtos cárneos

maturados (presuntos crus, salames, linguiças dessecadas, charque, *jerked beef* e similares) devem estar em acordo com os seguintes padrões: Coliformes a 45°C, a tolerância para a amostra indicativa e para cada uma das duas amostras em cinco amostras analisadas é de 10^3 UFC.g⁻¹; *Staphylococcus* coagulase positiva, a tolerância para a amostra indicativa é para uma amostra em cinco amostras analisadas de $5,0 \times 10^3$ UFC.g⁻¹; *Salmonella* sp. deve estar ausente tanto na amostra indicativa quanto nas cinco amostras analisadas (BRASIL, 2001).

De acordo com Stahnke et al. (2002), com a tecnologia de produção e pH final os salames podem ser classificados em dois grandes grupos, os salames do Norte da Europa, que possuem curto tempo de maturação, pH final menor que cinco e conseqüentemente um sabor mais picante. Por sua vez, o outro grande grupo de salames pode ser denominado de salames do Mediterrâneo ou do Sul da Europa que, em contrapartida, possui além de uma maturação mais longa, seu valor de pH final superior a cinco, que caracteriza um sabor mais envolvente. De acordo com Terra, Fries e Terra (2004), o salame no Brasil por apresentar baixa atividade de água e acidez, enquadra-se no grupo com as características dos salames do Mediterrâneo ou sul da Europa.

No processamento, embutidos cárneos sofrem fermentação microbiana com conseqüente acúmulo de ácido láctico, acontecendo assim uma queda de pH, que rege o crescimento microbiano, e, posteriormente ocorrem importantes reações bioquímicas que acontecem durante o período de maturação. Por conseqüência do processo de maturação, a perda de água que ocorre no embutido também é muito importante para a sua conservação e responsável por algumas propriedades sápidas, pois reduz a atividade de água tornando o meio impróprio para o crescimento de micro-organismos indesejáveis (ORDÓÑEZ et al. 2005; TERRA 1998).

2.3 Fermentação e sua importância tecnológica

Fermentação, do latim significa *fervere*, vem sendo utilizada na preservação de alimentos há milhares de anos, mas é com a evolução científica, que se passa a compreender a função dos micro-organismos nos processos alimentícios,

impulsionando o uso de culturas iniciadoras aplicadas em processos fermentativos, tanto na indústria de bebidas quanto na indústria láctea e cárnea, indústria esta onde o processo de fermentação possui papel primordial na produção de salames (TERRA; FRIES; TERRA, 2004)

A fermentação é uma etapa imprescindível para a produção de embutidos fermentados de qualidade, pois nela ocorre uma série de reações bioquímicas, físicas e microbiológicas que estão diretamente relacionadas com o desenvolvimento das características sensoriais do embutido (TERRA, 1998).

De acordo com Nassu (1999), uma rápida queda de pH é vantajosa para o desenvolvimento de micro-organismos desejáveis ao processo, inibindo assim os indesejáveis, que poderiam causar danos ao produto e a saúde do consumidor.

Durante o processo de fermentação o embutido sofre a ação de bactérias lácticas que por sua vez causam a acidificação do meio, com a produção do ácido láctico a perda de água do embutido será mais uniforme. O ácido láctico produzido age na degradação das proteínas dando ao produto uma textura mais firme, e também conferindo suas propriedades organolépticas características (PEARSON; TAUBER, 1984, DEGENHART, 1988, BACUS 1986, *apud* NASSU, 1999).

Durante a fermentação, a presença de sais de cura nos embutidos fermentados é importante tanto no sentido de inibir micro-organismos indesejados, como é o caso da ação inibitória do nitrito (NO_2) em relação ao *Clostridium botulinum*, quanto em contribuir na formação de cor característica, proteção contra oxidação lipídica e formação de aroma e sabor. A quantidade mínima de nitrito requerida para produzir a cor adequada na carne e em todos os produtos cárneos é estimada entre 30 e 50 mg.kg^{-1} enquanto que, para produzir aroma típico de curado em um produto cárneo são necessários de 20 a 40 mg.kg^{-1} (ORDÓÑEZ et al., 2005).

O Nitrato (NO_3) serve como fonte de nitrito (NO_2) que por sua vez em meio acidificado pela ação de bactérias lácticas forma um intermediário, o óxido nítrico (NO), este por sua vez liga-se com a mioglobina presente nos tecidos originando um composto chamado de mioglobina nitrosa, esta apresenta cor rósea instável, por ação do aquecimento, formará o hemocromo, responsável pela cor vermelha

atraente dos produtos curados. Esta reação é mais estável quanto mais abaixo de 6 estiver o pH (ORDÓÑEZ et al., 2005).

Cavenaghi (2005) aponta a explicação da conservação dos alimentos que fazem o uso de fermentações, para a teoria introduzida por Leistner (1986), teoria dos obstáculos, que está baseada na utilização de dois ou mais fatores de conservação de maneira simultânea, sendo que cada qual é utilizado com menor intensidade do que usado isoladamente, assim sendo haverá barreiras para o desenvolvimento de micro-organismos indesejados, e também conferência das características próprias do produto.

2.3.1 Mecanismo de fermentação

As bactérias ácido lácticas (BAL) que fazem parte do processo de fermentação de embutidos podem ser divididas em dois grandes grupos: as heterofermentativas, que produzem além de ácido láctico outros ácidos orgânicos, dióxido de carbono e etanol, estas por sua vez são indesejadas na produção de embutidos, pois podem conferir ao mesmo uma acidificação excessiva e outros problemas tecnológicos. Logo o outro grupo, as homofermentativas são desejadas, pois possuem como metabólito majoritário o ácido láctico, responsável pela conferência das características do embutido (SAWIZTKI, 2007; TERRA, 1998).

Para Ordóñez et al. (2005), a partir do momento em que a massa cárnea está embutida na tripa, ocorre uma alteração de ambiente. Este novo ambiente auxilia no desenvolvimento de micro-organismos psicrófilos, Gram-negativos, oxidase positivo, mas principalmente *Pseudomonas*, *Achromobacter* e *Flavobacterium* que estão presentes na microbiota inicial. Porém, o uso de sais de cura, a acidez e anaerobiose causam condições adversas para o crescimento destes micro-organismos, que por sua vez começam a ceder lugar à microbiota Gram-positiva, mofos e leveduras, nesta fase ocorre a redução do nitrato e a fermentação dos açúcares, fases muito significativas para as características finais do produto.

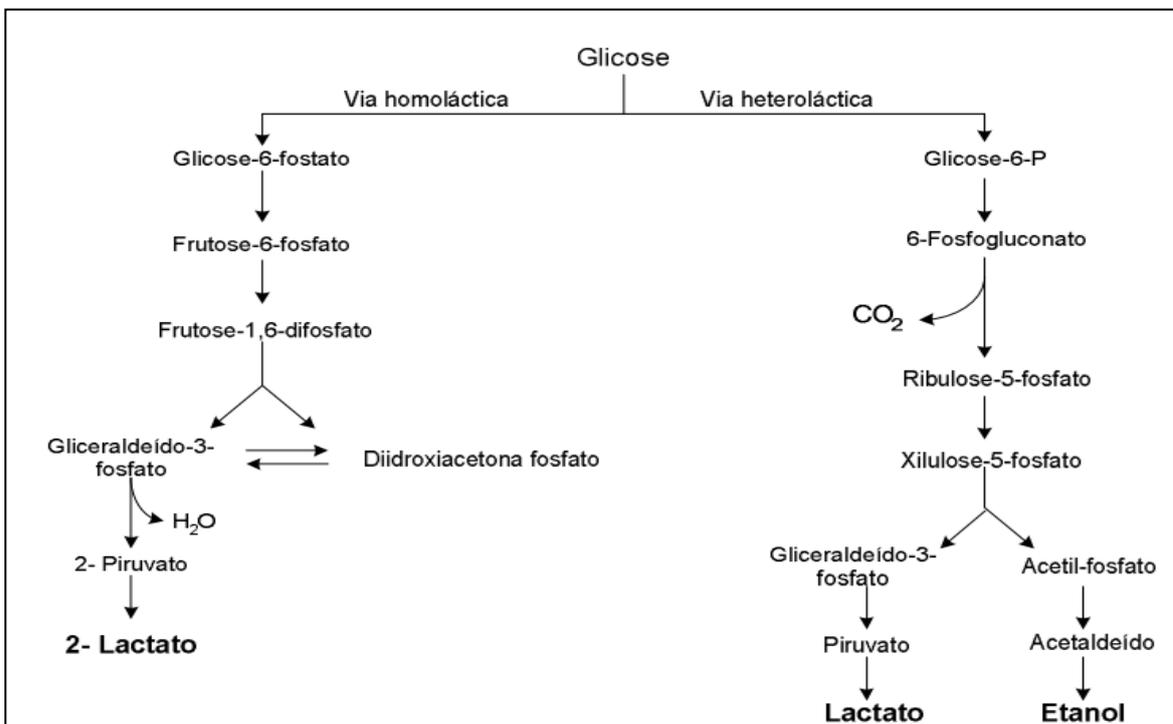
A redução dos nitratos é realizada durante as primeiras 24 horas de fermentação, neste período os níveis de ácido produzido pelas bactérias lácticas ainda estão muito baixos. As bactérias nitrato redutoras presentes no meio efetuam

a redução do nitrato a nitrito que dá início às reações de cura que são responsáveis pela coloração típica destes produtos, este grupo de bactéria vai desaparecendo devido a microaerofilia, e à medida que o pH é reduzido por ação de bactérias lácticas (SHIMOKOMAKI et al. 2006).

A fermentação dos açúcares é feita por diferentes espécies de *Pediococcus* e *Lactobacillus*, resultando na produção de ácido láctico, o qual é responsável pela queda de pH. Esta queda de pH é muito importante para a maturação deste tipo de produto, sendo que é bastante acentuada nos primeiros sete dias de fermentação, mas pode variar de acordo com a contagem inicial das bactérias acidificantes, o calibre do embutido, pH inicial da carne e quantidade de carboidratos (substrato). A acidificação é muito importante, pois, inibe a microbiota indesejada, atinge o ponto isoelétrico das proteínas fazendo com que o embutido libere água, diminuindo assim a atividade de água, e conferindo propriedades como a fatiabilidade ao mesmo (TERRA, 1998).

A Figura 1 apresenta um esquema geral de fermentação da glicose que ocorre no embutido.

Figura 1 – Esquema geral de fermentação da glicose pelas bactérias lácticas



Fonte: CAPLICE E FITZGERALD (1999)

2.4 Maturação

Depois do embutimento quando acondicionado em câmara de maturação o embutido passa por duas fases, a fermentação, discutida anteriormente que perdura aproximadamente até o sétimo dia, seguida da etapa de maturação, onde a queda de pH decorrente da produção de ácidos pelo metabolismo das bactérias lácticas contribui auxiliando na formação do *flavor* característico do embutido, pois facilita as enzimas tissulares e microbianas a degradarem os lipídios e as proteínas precursoras do *flavor* nos embutidos cárneos fermentados. Também nesta fase, na maturação, devido a descarboxilação e desaminação de aminoácidos pode ocorrer uma alcalinização do meio, devido a liberação de amônia, todavia o pH pode voltar a cair por conta da lipólise que libera ácidos graxos no meio (TERRA, FRIES e TERRA, 2004).

Para Ordóñez et al. (2005) na fase de maturação os embutidos são mantidos sob condições inferiores de temperatura e umidade (Tabela 2), e é nesta fase que ocorre a maior parte da desidratação do produto, iniciando-se também a hidrólise enzimática de proteínas e lipídios. O mesmo autor ainda pontua que a proteólise leva a formação de aminoácidos como alanina, leucina, valina, serina, glicina e prolina que quando desaminados levam à formação ácidos orgânicos que por sua vez podem transformar-se em produtos voláteis como alcoóis e aldeídos e que contribuem para o sabor e aroma do embutido, ainda a proteólise ocorrida na fase de maturação do embutido contribui nutricionalmente, aumentando a digestibilidade tanto das proteínas quanto de aminoácidos.

Neste sentido Lucke (1994) ressalta que alguns embutidos com maior tempo de maturação apresentam qualidade de aroma e sabor superiores em relação aos maturados tradicionalmente, devido ao fato de apresentarem maior quantidade de produtos de degradação lipídica e protéica.

2.5 Uso de culturas iniciadoras em embutidos cárneos

Na década de 50, ocorreu a introdução comercial de culturas puras de micro-organismos, chamadas culturas *starter* ou culturas iniciadoras, aos produtos

fermentados, permitindo benefícios como a uniformidade entre os produtos, redução do tempo de fermentação e uma alta conservação do produto (VURAL, 1998).

Desde então, buscando explorar estes benefícios diminuindo o tempo de fermentação, padronizando as características organolépticas dos seus produtos fermentados a indústria cárnea descarta o uso de fermentação espontânea e adota o uso de culturas iniciadoras conhecidas. Com relação às culturas utilizadas (Tabela 1) destacam-se as BAL como culturas iniciadoras, e cocos Gram positivos e catalase positivos (CNS) responsáveis por estabilização de cor, prevenção à rancificação e auxílio na formação de compostos voláteis diretamente relacionados com o *flavor* do embutido (LAUKOVÁ et al., 2010; FIORENTINI 2009).

Tabela 1 – Principais micro-organismos utilizados como iniciadores na produção de embutidos.

Grupos	Gênero/espécie	Atividade metabólica	Benefícios
Bactérias Láticas	<i>Lactobacillus plantarum</i>	✓ Formação de ácido láctico	Inibição de bactérias patogênicas e deteriorantes
	<i>L. acidophilus</i>		
	<i>L. casei</i>		
	<i>L. sake</i>		
	<i>L. curvatus</i>		Aceleração da formação de cor e secagem
	<i>L. pentosus</i>		
	<i>Pediococcus cerevisiae</i>		
	<i>P. acidilactici</i>		
Cocos catalase positiva	<i>Micrococcus varians</i>	✓ Redução de nitrato	Formação e estabilização da cor, retardamento da oxidação, desenvolvimento de aroma, remoção de nitrato em excesso
	<i>M. lutens</i>	✓ Consumo de oxigênio	
	<i>M. roseus</i>	✓ Destruição de peróxidos	
	<i>Staphylococcus carnosus</i>	✓ Lipólise	
	<i>S. xylosus</i>		
Leveduras	<i>Debaromyces hansenii</i>	✓ Consumo de oxigênio e lipólise	Retardamento da oxidação e desenvolvimento
	<i>Candida formata</i>		

Continua...

			do aroma
Bolores	<i>Penicillium nalgiovensis</i>		Estabilização de cor, retardamento da oxidação e desenvolvimento do aroma
	<i>P. crysogenum</i>	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Consumo de oxigênio ✓ Destruição de peróxidos ✓ Oxidação de lactato, ✓ Proteólise e lipólise 	

Fonte: Adaptado de LUCKE (1994).

Visto que as BAL são responsáveis pela acidificação que é essencial no processo de obtenção de embutidos fermentados, e as bactérias CNS contribuem positivamente em aspectos organolépticos e de inocuidade, alguns autores como Sawiztki et al, (2007, 2008, 2009) Fiorentini et al. (2009a, 2009b, 2010) lograram êxito estudando o isolamento e a possibilidade de aplicação de *Lactobacillus plantarum* e *Staphylococcus xylosus* respectivamente, como culturas iniciadoras em salame tipo Milano.

2.5.1 *Staphylococcus xylosus* (CNS)

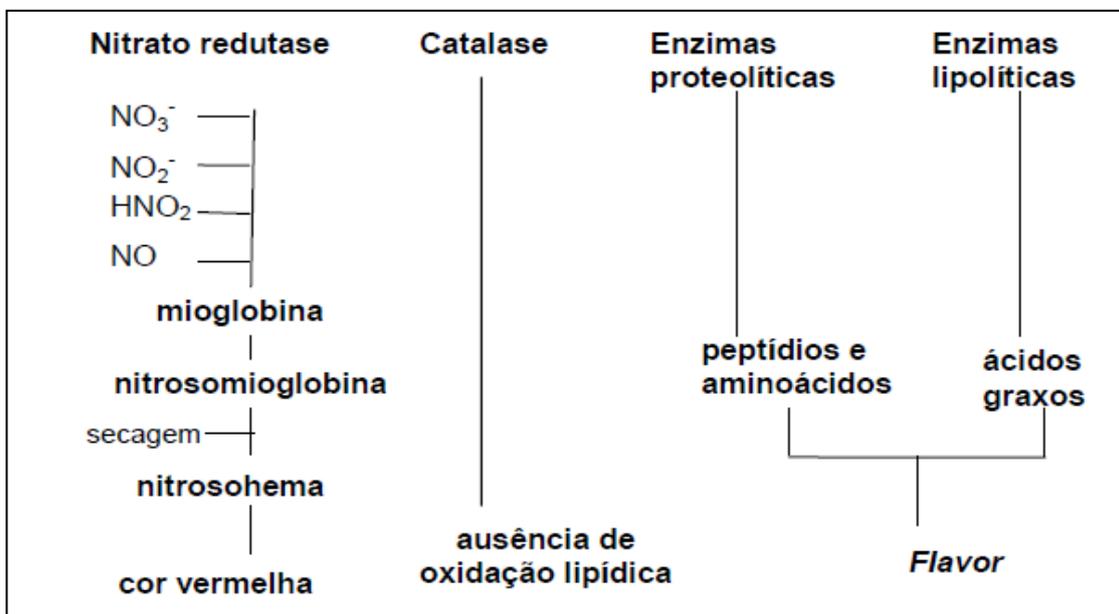
A família Micrococcaceae utilizadas em cultivos iniciadores comerciais onde está compreendido o *Staphylococcus xylosus*, apresenta características de cocos Gram positivos, aeróbios facultativos, catalase positivas, desenvolvem-se a temperaturas ótimas de 25-35°C, em pH 5,0 a 5,5 e em substratos com 10% de NaCl, são nitrato redutores e não são produtoras de ácido láctico (FRAZIER, 1993).

Importantes propriedades tecnológicas são atribuídas ao *Staphylococcus xylosus*, quando observada a sua contribuição como cultivo iniciador na produção de embutidos fermentados, sendo elas principalmente: atividade nitrato redutase, que auxilia na segurança microbiológica bem como na estabilização da cor do embutido; ação da enzima catalase, que auxilia na redução da oxidação da mioglobina e de lipídeos; atividade antagonista, realizando a geração de metabólitos que inibem bactérias indesejadas no processo de fermentação, e por fim, a Figura 2 mostra um importante atributo diretamente relacionado com a qualidade sensorial do embutido, baseado na expressão de um perfil enzimático capaz de degradar proteínas e lipídios (FIORENTINI, 2008).

Antoni (2005) reporta que o perfil enzimático do *Staphylococcus xylosus*, e de outros membros da família Staphylococcaceae, é responsável pela formação de certos ésteres que são essenciais para a obtenção do aroma característico de produtos fermentados, principalmente quando se deseja certa nota frutal para o aroma.

Stahnke (1994) relata a contribuição do uso de *Staphylococcus xylosus*, na redução de produtos de auto-oxidação quando comparado o tratamento inoculado a tratamentos sem a inoculação do micro-organismo, o autor justifica esse resultado pela produção de catalase, uma enzima intracelular importante na decomposição de peróxido de hidrogênio impedindo a formação de hidroperóxidos, e assim, previnem a oxidação lipídica. O mesmo autor ainda pontua que *Staphylococcus xylosus* por possuir atividade lipolítica e proteolítica contribui positivamente para a formação do *flavor* em embutidos, produzindo a partir de proteínas e lipídios compostos como: peptídios, aminoácidos, aldeídos, amins e ácidos graxos livres, que podem servir como precursores para compostos com grande importância odorífera.

Figura 2 – Representação esquemática das principais características tecnológicas de *Staphylococcus xylosus*.



Fonte: Adaptado de BUCKENHÜSKES (1993)

2.5.2 *Lactobacillus plantarum*

O gênero *Lactobacillus* caracteriza-se por apresentar células em forma de bacilos (bastão), podendo ser curtos e curvos, também pode apresentar-se na forma de cocobacilos. A mobilidade é rara, são Gram positivos, desenvolvem-se geralmente em condições de anaerobiose ou pressão reduzida de oxigênio, não formadores de esporos, acidúricos, com pH ótimo geralmente 5,5 a 6,2. Desenvolvem-se melhor em meio ácido fraco com pH inicial 6,4 a 4,5, seu desenvolvimento cessa com pH próximo a 4,0, salvo que estas características dependem da espécie e cepa (KANDLER; WEISS, 1986, *apud* SAWITZKI, 2007b).

Ainda que *Lactobacillus* possua o perfil acima descrito, existem outras propriedades que são significativas na possibilidade de uso de um micro-organismo como cultura iniciadora em embutidos fermentados, como tolerância a concentrações de sal (NaCl) de até 6%, e aos sais de cura (nitratos e nitritos) adicionados a formulação (AMMOR; MAYO, 2007; SAWITZKI et al. 2009).

O *Lactobacillus plantarum* é uma BAL utilizada como cultura iniciadora, sua capacidade de acidificar o meio convertendo os açúcares presentes na carne em ácidos orgânicos, principalmente em ácido láctico, é importante para a produção de embutidos fermentados de qualidade, visto que o acúmulo destes metabólitos gera uma redução de pH no meio, chegando ao ponto isoelétrico das proteínas miofibrilares (5,4) fazendo com que o embutido libera água, diminuindo assim a a_w e contribuindo com a formação da textura característica. A acidificação mais acentuada acontece nos primeiros dias após o embutimento, enquanto existe uma disponibilidade maior de substrato, deste modo o meio torna-se impróprio para o desenvolvimento microbiano indesejado, ainda com a acidificação do meio contribui para a aceleração de redução dos nitratos e nitritos, e, o acúmulo de ácidos orgânicos é também em grande parte responsável pelo sabor característico do produto (ORDÓÑEZ et al. 2005; DALLA SANTA, 2008).

2.6 Processo de produção de embutidos fermentados

De acordo com Scheid (2001), para que a fermentação não seja comprometida e assim se obtenha um produto final de qualidade, é importante que a manipulação da matéria-prima seja feita de forma a se possuir uma baixa contaminação inicial, e uma boa higienização de equipamentos e utensílios utilizados no processo de fabricação do embutido.

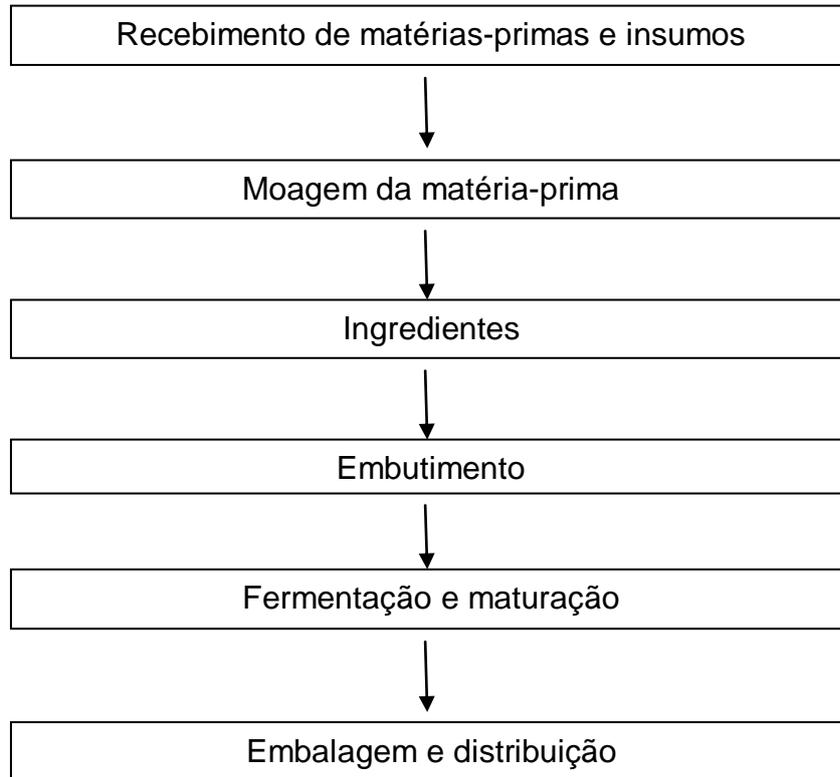
Basicamente, a produção de salame inicia-se com a moagem da carne *in natura* em discos com granulometria específica para cada variedade de salame, seguido de fermentação e maturação que pode durar de dias a meses, podendo ser defumado ou não, com estabilidade microbiológica assegurada por baixa atividade de água e pH (NASSU, 1999).

Para Pardi et al. (1996) *apud* Barbosa (1999), o início do processo de fabricação de salames dá-se a partir da preparação da massa, que é triturada juntamente com a gordura e ingredientes, em partículas médias ou grandes.

Os ingredientes de cura adicionados são basicamente o sal que é possui como função potencializar o sabor, modificar a pressão osmótica inibindo crescimento de micro-organismos indesejados, contribuindo também na textura facilitando a solubilização das proteínas miofibrilares. O açúcar adicionado além de diminuir a umidade do meio, cria condições redutoras durante a fermentação/maturação, diminuindo o desenvolvimento de aromas de oxidado, o mesmo também atua positivamente na formação de cor, pois as condições redutoras criadas estabilizam o Fe^{2+} . Os nitratos e nitritos contribuem basicamente para a estabilização da cor, contribuem para o desenvolvimento de aroma típico de carne curada, inibem o crescimento de micro-organismos indesejados (*Clostridium botulinum*) e retardam o desenvolvimento da rancificação (ORDÓÑEZ et al. 2005).

Segundo Borges (1999), após a trituração ou moagem da matéria-prima, a mesma é levada até a misturadeira, onde se dará a mistura e adição dos ingredientes. Após a moagem e mistura, a massa é embutida em tripas naturais ou artificiais, tomando cuidado para que não ocorra a formação de bolhas de ar durante o processo de embutimento. A figura 3 ilustra este procedimento.

Figura 3 - Fluxograma de produção de embutido fermentado.



Fonte: Adaptado de SIMONSEN et al. (1987)

O produto acabado é fermentado/maturado em câmara de maturação, onde o mesmo estará sob efeito de umidade, temperatura e circulação de ar, variáveis estas que devem ser controladas (Tabela 2). Segundo Terra (1998), na câmara de maturação este processo compreende duas fases, a primeira compreende a fermentação que por sua vez ocorre na fase inicial, e a segunda trata da perda de água que irá atribuir ao produto características sápidas e abaixamento de atividade de água.

Durante a fermentação e a desidratação, as condições físicas da câmara determinam as reações internas do embutido. Por sua vez, juntamente com as características intrínsecas, determinam fatores como o desenvolvimento de cor, textura, perda de peso, sabor e estabilidade microbiológica do produto (WAGNER, 2008).

Tabela 2 – Controle das variáveis físicas da câmara de maturação pelas indústrias.

Tempo	UR (%)	Temperatura (°C)	Velocidade ar (m/s)
1° dia	95	25	
2° dia	93	24	
3° dia	90	23	
4° dia	85	22	0,5
5° dia	80	21	
6° dia	75	20	
7° dia	75	18	0,2
28° dia...	75	18	0,2

Fonte: TERRA (1998)

2.7 Cor

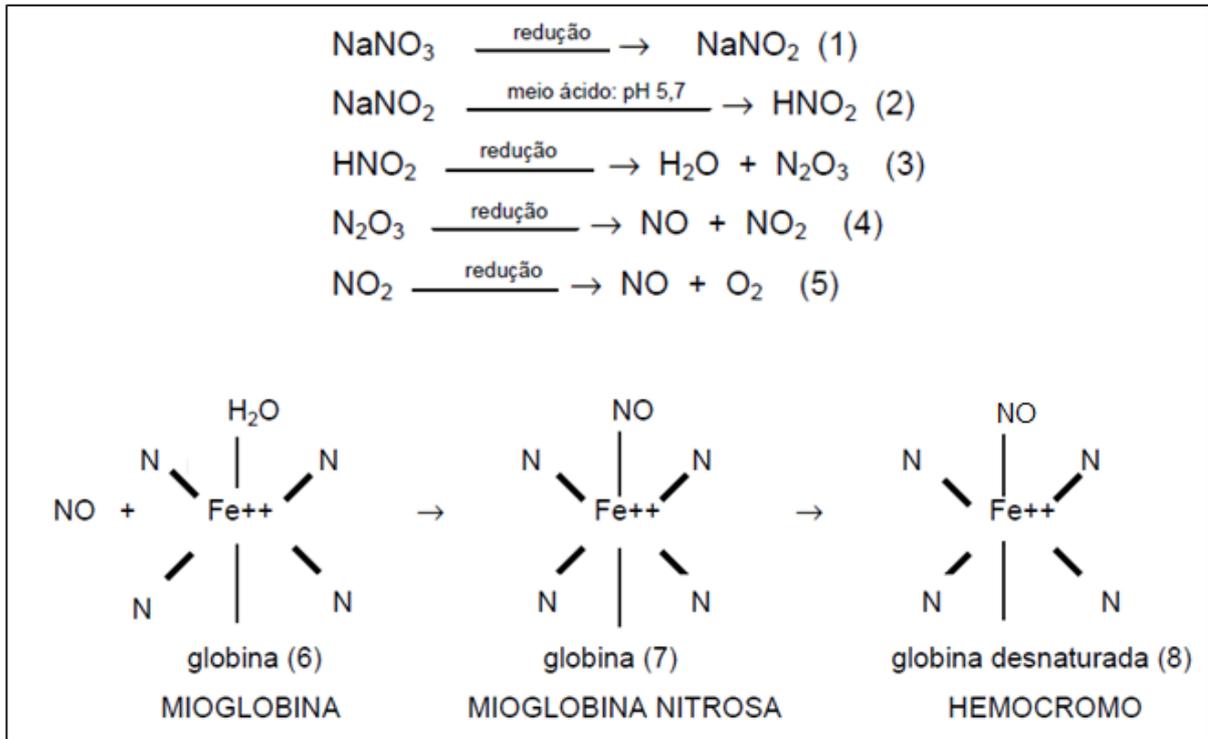
A formação da cor em produtos cárneos processados, como embutidos fermentados, depende principalmente das modificações químicas do pigmento natural da carne, devido as suas reações com o cloreto de sódio refinado e com os sais de cura (nitrito). Este processo é complexo, lento e ocorre do interior até a superfície do produto, resultado de uma série de processos microbianos, enzimáticos e químicos que dependem de muitos parâmetros, tais como pH, concentração do pigmento, potencial redox, distribuição dos agentes de cura, temperatura e umidade (CHASCO; LIZASO; BERIAIN, 1996 *apud* CAVENAGHI, 2005).

Para que um embutido fermentado tenha a coloração típica é premissa básica que ocorra a formação de óxido nítrico (NO) (que deriva da redução dos sais de cura adicionados à massa cárnea), que vai reagir com a mioglobina ou metamioglobina produzindo, assim, pigmentos com cores vermelhas ou cinza (TERRA; FRIES; TERRA, 2004).

Neste sentido, Fiorentini (2008), ressalta a pertinência do uso de CNS como culturas iniciadoras, visto que tais micro-organismos possuem um perfil enzimático responsável pela transformação dos sais de cura em óxido nítrico (NO), onde este

por sua vez está diretamente relacionado com a estabilização da cor no embutido, este processo pode ser observado na figura 4.

Figura 4 - Reações químicas características da formação da cor dos produtos cárneos curados.



Fonte: FOREST; ABERLE; HEDRICH (1979)

Deste modo é relevante observar as condições (umidade e temperatura) sob as quais o embutido está armazenado durante o processo de maturação, pois, as mesmas influenciam no processo de formação de cor.

2.8 Textura

A textura é definida como a manifestação sensorial da estrutura de um alimento e a maneira na qual esta estrutura reage a uma força aplicada, sendo que a textura corresponde à resistência frente à deformação devida a estrutura natural do produto ou produzida tecnologicamente. A textura é um atributo importante, afetando a preferência do consumidor, a aceitabilidade do alimento, o processamento e o manuseio do mesmo. Adicionalmente, em carnes extremamente alteradas a textura é usada como sinal de deterioração (CAVENAGHI, 2005).

A acidificação do embutido contribui com as propriedades de fatiabilidade (SCHEIDT et al., 2009). Em embutidos fermentados secos, a fatiabilidade e a firmeza no corte são algumas características desejáveis de textura. Estas características estão associadas com a aderência e ao aumento da consistência das partículas, o que é atribuído à solubilização e gelatinização das proteínas e à remoção da água. Desta forma, a textura do produto pode ser atribuída à rápida acidificação, a valores de pH próximos ao ponto isoelétrico das proteínas, o que acelera a secagem do produto, compactando e agregando as estruturas protéicas (DEMEIYER et al., 1986; GALLI, 1993; DETONI et al., 1995; KENNEALLY et al., 1998, *apud* SHEID, 2001).

Depois da moagem da carne ocorre a adição de sal, que solubiliza as proteínas musculares, as quais coagulam formando um gel que envolve o toucinho e as partículas cárneas, a firmeza do embutido aumenta rapidamente, quando o pH do embutido alcança o valor de 5,4 e promove quedas graduais até pH 4,9. (TERRA, FRIES e TERRA, 2004).

2.9 Aroma e Sabor

Mundialmente diferentes combinações entre matérias-primas e ingredientes, associadas às condições de fermentação/maturação, resultam na produção de diversos tipos de salames. Desta forma a matriz alimentícia está propensa a mudanças físicas, químicas e bioquímicas. Portanto, é fortemente influenciado pela atividade das enzimas endógenas da matéria-prima, bem como pela atividade enzimática microbiana, as quais determinam tanto a segurança microbiológica quanto a qualidade sensorial do produto (ORDÓÑEZ et al., 2005).

A aceitação de produtos cárneos depende em grande parte do seu sabor, determinado principalmente pelo gosto e pelos compostos voláteis, constituintes do aroma. No caso de produtos como o salame, o aroma é oriundo de uma gama enorme de compostos presentes nos condimentos e na matéria prima, nas etapas de fermentação e maturação. As enzimas endógenas, enzimas microbianas e reações químicas são responsáveis pela transformação destes compostos em compostos voláteis (RAMARATHNAM e RUBIN, 1994, *apud* WAGNER, 2008).

Compostos voláteis como terpenos e compostos sulfurados, provenientes da adição de especiarias na formulação são comumente identificados em embutidos fermentados (SUNESSEN et al. 2001; CAMPOS et al. 2007; STAHNKE et al. 2002). No entanto Stahnke et al. (2002), estudando a aceleração da maturação de salame Italiano e a relação entre a maturação e os compostos voláteis relata aproximadamente metade dos compostos encontrados em seu estudo como compostos oriundos de especiarias, todavia pontua que não necessariamente pela sua expressiva presença são altamente impactantes no sabor global dos embutidos.

Existem diversos métodos de isolamento de compostos voláteis em alimentos, estes podem ser divididos em duas classes, os métodos de Análise Total, que compreendem a análise de todos os compostos presentes na matriz alimentícia, e os métodos conhecidos como métodos de análise do *headspace*, que analisa somente os voláteis da parte gasosa em equilíbrio sobre a amostra, seja ela sólida ou líquida, estes compostos representam mais fielmente o que é sentido pelo nosso olfato. Três técnicas têm sido empregadas para a análise dos constituintes voláteis em salame, a extração por destilação simultânea, o *headspace* dinâmico e a microextração em fase sólida (SPME) (WAGNER, 2008).

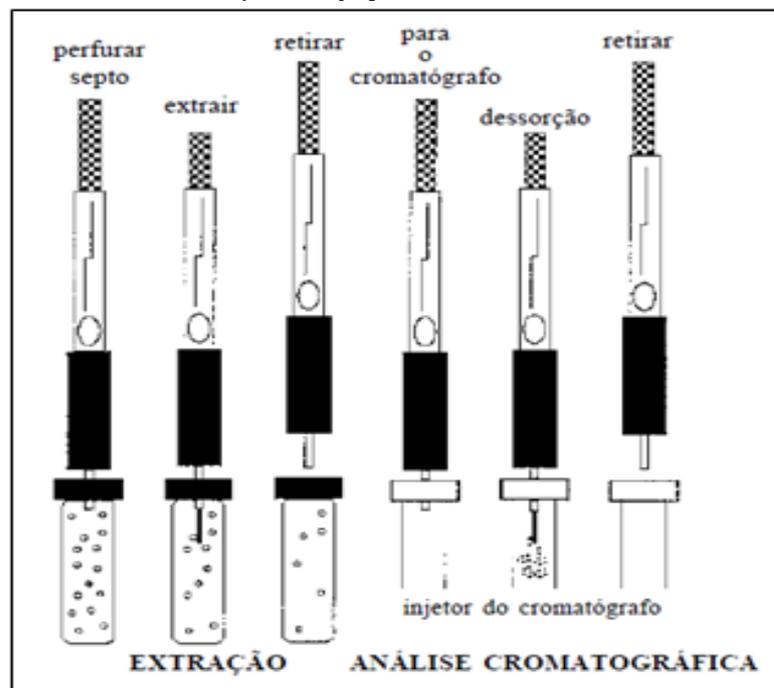
Considerando que a Cromatografia Gasosa (CG) evoluiu, torna-se possível a identificação e quantificação de analitos, mas por ser uma técnica analítica ela depende da qualidade da etapa de preparo da amostra, pois quase nenhuma matriz pode ser diretamente injetada num cromatógrafo gasoso. Neste sentido o sucesso da análise está diretamente relacionado com o método adequado de preparo da amostra. Por não utilizar solvente, adequar-se as sensibilidades dos detectores de CG, a técnica de SPME é aplicável a muitos tipos de analitos (VALENTE; AUGUSTO, 2000).

Ruiz et al. (1998, 1999) salientam que muitos métodos para detecção de compostos voláteis como a destilação por arraste de vapor e a destilação a vácuo tem sido empregados para a detecção de voláteis em presuntos curados, porém com o desenvolvimento da técnica de (SPME) a mesma vem sendo utilizada com sucesso na detecção de voláteis em alimentos e bebidas (XIAOGEN; PEPPARD, 1994). O mesmo autor destaca que esta técnica pode ser usada no controle de

qualidade da indústria cárnea, pois além de dispensar o uso de solventes é de fácil aplicação e relativamente rápida.

A técnica de SPME está baseada em uma fase extratora imobilizada na superfície de uma fibra de sílica fundida que é responsável pela sorção dos analitos presentes no *headspace* da amostra. Uma fase polimérica líquida ou uma fase sólida recobre a fibra. A partição é o mecanismo físico-químico responsável pela extração de fases poliméricas líquidas (polidimelsiloxano (PDMS) e o poliacrilato (PA)). Quando sólidos porosos recobrem a fase líquida, as fibras são chamadas mistas, assim como Divinilbenzeno-PDMS, Carboxen/PDMS, Carbowax-DVB e Carbowax-resina modelada (TR), e neste caso o processo também envolve, principalmente, a adsorção dos analitos. Com a fibra retraída na agulha, o septo do frasco de amostra (vial) é perfurado e a fibra é exposta à amostra. Terminado o tempo de extração a fibra é novamente retraída, a agulha é retirada do septo e levada para inserção no CG (AUGUSTO; VALENTE 2002). A Figura 5 mostra o uso do amostrador de SPME para o processo de extração e o de dessorção do material extraído para injeção no CG.

Figura 5 - Uso do amostrador de SPME para o processo de extração e o de dessorção do material extraído para injeção no CG.



Fonte: VALENTE; AUGUSTO (2000)

Muitas pesquisas utilizaram a técnica de SPME para análise de voláteis em embutidos fermentados (WAGNER, 2008; MARCO et al., 2004; CAMPOS et al., 2007; FLORES et al., 2007; SUMMO et al., 2010), todavia Franco (2003) com relação à temperatura de extração pontua que alguns produtos, possuem voláteis termolábeis ou suscetíveis a rearranjos, ciclizações e outras reações químicas decorrentes do aumento de temperatura, resultando num perfil de voláteis diferente de sua composição original.

Marco et al. (2004), estudando o desenvolvimento e a otimização de um procedimento de amostragem por SPME usando diferentes fibras, para determinação qualitativa e quantitativa de compostos voláteis presentes no *headspace* de amostras de salame, identificou 90 compostos voláteis, verificando como majoritários o etanol, ácido acético, hexanal, 3-metil 1-butanol, ácido butanóico. Campos et al. (2007), pesquisando o perfil de ácidos graxos e voláteis em salame elaborado com matéria-prima cárnea obtida de suínos com dieta que compreendia a substituição parcial do milho por arroz, utilizando a técnica de SPME identificou e quantificou cerca de 40 compostos voláteis, apresentando-se com presença pronunciada o etanol, hexanal, ácido acético e o composto sulfurado 3-metil-1-propeno. Summo et al. (2010) também utilizando a técnica de SPME, estudando o comportamento de compostos voláteis de salames embalados em diferentes condições atmosféricas durante a vida de prateleira identificou cerca de 70 compostos, com destaque para o 3-careno, limoneno, acetoina (3-hidroxi 2-butanona) e o 2,3 butanodiol. Os compostos encontrados por estes autores variaram entre, alcoóis, aldeídos, cetonas, ésteres, hidrocarbonetos, ácidos, terpenos, pirazinas, furanos e compostos sulfurados.

Quanto a origem destes compostos encontrados majoritariamente nos estudos acima citados, o ácido acético, etanol e ácido butanóico possuem sua origem na fermentação de carboidratos realizada por micro-organismos, o 3-careno, limoneno e metil tio1-propeno, são provenientes de especiarias utilizadas na condimentação. Enquanto enzimas endógenas, microbianas e reações químicas sintetizam o hexanal relacionado a oxidação lipídica, o 3-metil butanol através do catabolismo de aminoácidos e o catabolismo do piruvato origina 3-hidroxi 2-butanona (acetoina) e 2,3-butanodiol (SUMMO et al., 2010; STAHNKE et al., 2002).

3 REFERÊNCIAS

AMMOR, M. S.; MAYO, B. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update. **Meat Science**, v.76 p.138–146, 2007.

ANTONI, Inaldo de. **Influência dos micro-organismos *Staphylococcus xylosum*, *Lactobacillus plantarum*, *Staphylococcus carnosus* no perfil aromático de salames de peru**. 2005. 170f. Tese. (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

AUGUSTO, F.; VALENTE, A. L. P. Applications of solid-phase microextraction to chemical analysis of live biological samples. **Trends in analytical chemistry**, v.21, p.428-438, 2002.

BARBOSA, Roberta Garcia. **Fabricação de salame tipo hamburguês com substituição parcial de sódio**. 2009. 69f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos)-Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

BORJES, Belimar Cleyde da Silva. **Produção do salame e principais defeitos (uma revisão)**. 2007. 46f. Monografia. (Especialização em Tecnologia de Alimentos)-Centro de Excelência, Universidade de Brasília, Brasília.

BRASIL. **ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a47bab8047458b909541d53fbc4c6735/RDC_12_2001.pdf?MOD=AJPERES> Acesso em: fev. 2012.

BRASIL. **Ministério da Agricultura**, Instrução Normativa Nº 22, de 31 julho de 2000. Regulamento técnico de identidade e qualidade de salame. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>> Acesso em: fev. 2014.

BRASIL. **Ministério da Agricultura**, animal, mercado interno. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/mercado-interno>> Acesso em: fev. 2012.

Brasil. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, projeções do Agronegócio: Brasil 2012/2013 a 2022/2023. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/projecoes%20-%20versao%20atualizada.pdf Acesso em: fev. 2013.

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

CAMPOS, R. M. L. de; HIERRO, E.; ORDOÑEZ, J. A.; BERTOL, T. M.; TERRA, N. N.; HOZ, L. de la. Fatty acid and volatile compounds from salami manufactured with yerba mate (*Ilex paraguariensis*) extract and pork back fat and meat from pigs fed on diets with partial replacement of maize with rice bran. **Food Chemistry**, v.103 p.1159–1167, 2007.

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.

CAVA, Guilherme da Costa. **Efeito da adição de extrato de alecrim e alho em pó nos parâmetros de cor e oxidação lipídica de produto cárneo emulsionado à base de carne de frango**. 2007. 152f. (Dissertação de Mestrado)-Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

CAVALHEIRO, C. P.; TERRA, N. N.; FRIES, L. L. M.; MILANI, L. I. G.; REZER, A. P. S.; CAVALHEIRO, C. V.; MANFIO, M. Características físico-químicas de embutido curado fermentado com adição de carne de avestruz associada à de suíno. **Ciência Rural** (Santa Maria), v.40, n.2, p.447-452, 2010.

CAVENAGHI, Angela Dulce. **Elaboração de embutidos fermentados cozidos com carne de coxa de frango**. 2005. 182f. (Tese de Doutorado)-Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

DALLA SANTA, Osmar Roberto. **Avaliação da qualidade de salames artesanais e seleção de culturas starter para a produção de salame tipo italiano**. 2008. 133f. (Tese de Doutorado)-Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

DESOUZART, Osler. A carne de aves no mundo em 2020. **Aveworld**, v.58, ano 10, p.28-38, 2012.

ESSID, I.; ISMAIL, H. B.; AHMED, S. B. H.; GHEDAMSI, R.; HASSOUNA, M. Characterization and technological properties of *Staphylococcus xylosus* strains isolated from a Tunisian traditional salted meat. **Meat Science**, v.77 p.204-212, 2007.

FIORENTINI, A. M.; SAWITZKI, M. C.; BERTOL, T. M.; BROD, F. C. A.; PELISSER, M. R.; ARISI, A. C. M.; SANT'ANNA, E. S. Phenotypic and Molecular Characterization of *Staphylococcus xylosus*: Technological Potential for Use in Fermented Sausage. **Brazilian archives of biology and technology**, v.52, n. 3, p.737-746, 2009.

FIORENTINI, A. M.; SAWITZKI, M. C.; BERTOL, T. M.; CUNHA JÚNIOR, A.; SANT'ANNA, E. S. Influence of a native strain of *Staphylococcus xylosus* on the microbiological, physicochemical and sensorial characteristics on Milano salami type. **Brazilian archives of biology and technology**, v.53, n. 4, p.961-974, 2010.

FIORENTINI, A.M.; SAWITZKI, M.C.; BERTOL, T.M.; SANT'ANA, E.S. Viability of *Staphylococcus xylosus* isolated from artisanal sausages for application as starters culturas in meat products. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.40 p.129-133, 2009.

FIORENTINI, Ângela Maria. **Caracterização e propriedades tecnológicas de *Staphylococcus xylosus* isoladas de salames artesanais e aplicação como cultura iniciadora em salame tipo Milano**. 2008. 113f. Tese. (Doutorado em Ciência dos Alimentos)–Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

FLORES, M.; GIANELLI, M. P.; PÉREZ-JUAN, M. TOLDRÁ, F. Headspace concentration of selected dry-cured aroma compounds in model systems as affected by curing agents. **Food Chemistry**, v.102 p. 488–493, 2007.

FOREST, J. C.; ABERLE, E. D.; HEDRICH, H. B. **Fundamentos de ciencia de La carne**. Zaragoza: Acribia, 1979. 364p.

FRANCO, M. R. B. **Aroma e sabor de alimentos: temas atuais**. São Paulo: Varela, 2003. 246p.

FRAZIER, W.C.; WHESTHOFF, D.C. **Microbiologia de los Alimentos**. Zaragoza: Acribia 1993. p.54-64.

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

LAUKOVA, A. SIMONOVA, M. STROMPFOVA, V. *Staphylococcus xylosus* S03/1M/1/2, bacteriocin-producing meat starter culture or additive. **Food Control**, v.21, p. 970–973, 2010.

LUCKE, Friedrich-karl. Fermented meat products. **Food Research International**. v.27, p.299-307, 1994.

MACEDO, R. E. F.; PFLANZER, S. B. J.; TERRA, N. N.; FREITAS, R. J. S. Desenvolvimento de embutido fermentado por *Lactobacillus* probióticos: características de qualidade. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.28, n. 3, p.509-519, 2008.

MARCO, A.; NAVARRO, J. L.; FLORES, M. Volatile compounds of dry sausages as affected by solid-phase microextraction (SPME). **Food Chemistry**, v.84, p.633-641, 2004.

MIELE, M.; MACHADO, J. S.; Panorama da carne suína brasileira. **Revista Agro Analysis [da] Fundação Getúlio Vargas**, v.30, n. 1, 2010.

NASSU, Renata Tieko. **Utilização da carne de caprino na fabricação de embutido fermentado, tipo salame**. 1999. 154f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos)-Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

OLIVO, Rubinson. **O mundo do frango: cadeia produtiva da carne de frango**. Criciúma, Ed. do autor, Coordenação geral Nilson Olivo, 2006.

ORDÓÑEZ, J, A.; RODRÍGUEZ, M. I. C.; ÁLVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLÓN, G, D, G, F.; PERALEZ, L, H.; CONTECERO, M, D, S. **Tecnología de alimentos**. Porto Alegre: Artmed, vol 2, 2005.

PILARSKI, Emmanuelle. **Estudo para o desenvolvimento de um produto não cominuído de frango desossado e fermentado**. 2007. 175f. (Dissertação de Mestrado)- Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas.

ROSENVOLD, K.; ANDERSEN, H. J. Factors of significance for pork quality - review. **Meat Science**, v.64, p.219-237, 2003.

RUIZ, J.; CAVA, R.; VENTANAS, J.; JENSEN, M. T. Headspace Solid Phase Microextraction for the Analysis of Volatiles in a Meat Product: Dry-Cured Iberian Ham. **J. Agric. Food Chem**, v,46, p.4688-4694, 1998.

RUIZ, J.; CAVA, R.; VENTANAS, J.; ANDRÉS, A.; GARCÍA, G. Volatile compounds of dry-cured Iberian ham as affected by the length of the curing process. **Meat Science**, v.52, p.19-27, 1999.

SAWITZKI, M. C.; FIORENTINI, A. M.; BROD, F. C. A.; TAGLIARI, C.; BERTOL, T. M.; ARISI, A. C. M.; SANT'ANNA, E. S. Phenotypic characterization and species-specific PCR of promising starter culture strains of *Lactobacillus plantarum* isolated from naturally fermented sausages. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.38, p.547-552, 2007.

SAWITZKI, M. C.; FIORENTINI, A, M.; CUNHA JUNIOR, A.; BERTOL, T. M.; SANT'ANNA, E. S. *Lactobacillus plantarum* AJ2 isolated from naturally fermented sausage and its effects on the technological properties of Milano-type salami. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, n. 3, p.709-717, 2008.

SAWITZKI, M. C.; FIORENTINI, A. M.; BERTOL, T. M.; SANT'ANNA, E. S. *Lactobacillus plantarum* strains isolated from naturally fermented sausages and their technological properties for application as starter cultures. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.29, n. 2, p.340-345, 2009.

SAWITZKI, Maristela Cortez. **Propriedades tecnológicas de *Lactobacillus plantarum* isolado de salames artesanais e aplicado como cultivo iniciador em salame tipo Milano**. 2007. 89f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

SCHEID, Gaspar Antonio. **Avaliação sensorial e físico-química de salame tipo italiano com diferentes concentrações de cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllus*)**. 2001. 94f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

SCHEIDT, G. N.; PORTELLA, A. C. F.; PEREIRA, C. D.; WOICIECHWSKI, A. L. Efeito da Adição de Culturas Iniciadoras Sobre Características Físico-Químicas e Microbiológicas de Salame Tipo Italiano Durante os Períodos de Maturação e Armazenamento. **Revista Ciências Exatas e Naturais**. v.11, n. 1, p.91-109, 2009.

SHIMOKOMAKI, M.; OLIVO, R.; TERRA, N. N.; FRANCO, B, D, G, M. **Atualidades em ciência e tecnologia de carnes**. São Paulo: Livraria Varela, 2006.

SIMONSEN, B.; BRYAN, F. L.; CHRISTIAN, J. H. B.; ROBERTS, T. A.; TOMPKIN, R. B.; SILLIKER, J. H. Prevention and control of food-borne salmonellosis through application of Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP). **International Journal of Food Microbiology**. v.4, p.227-247, 1987.

STAHNKE, L. H; HOLCK, A.; JENSEN, A.; NILSEN, A.; ZANARDI, E. Maturity acceleration by *Staphylococcus carnosus* i fermented sausage- relationship between maturity and flavor compounds. **Journal of Food Science**, v.35, p.1914-1921, 2002.

Stahnke, L. H. Aroma components from dried sausages fermented with *Staphylococcus xylosum*. **Meat Science**. v.38, p.39-53.

SUMMO, C.; CAPONIO, F.; TRICARICO, F.; PASQUALONE, A.; GOMES, T. Evolution of the volatile compounds of ripened sausages as a function of both storage time and composition of packaging atmosphere. **Meat Science**. v.86, p.839–844, 2010.

SUNESSEN, L. O.; DORIGONI, V.; ZANARDI, E.; STAHNKE, L. Volatile compounds released during ripening in Italian dried sausage. **Meat Science**. v.58, p.93-97, 2001.

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

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

VALENTE, A. L. P.; AUGUSTO, F. Microextração por Fase Sólida. **Química Nova**, v.23 n. 4 p.523-530, 2000.

VURAL, H. The use of commercial starter cultures in the production of turkish semi-dry fermented sausages. **Z Lebensm Unters Forsch A**, v.207, p.410-412, 1998.

WAGNER, Roger. **Composição de voláteis e aroma de salames nacionais tipos Italiano e Milano**. 2008. 277f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos)- Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

XIAOGEN, Y.; PEPPARD, T. Solid-Phase Microextraction for Flavor Analysis. **J.Agric. Food Chem**, v.42, p.1925-1930, 1994.

ZANETTE, Cristina Maria. **Efeitos da adição de cultura starter bacteriocinogênica produzida por *Lactobacillus plantarum* sobre *Listeria monocytogenes* em lingüiça colonial.** 2010. 88f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos)-Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

CAPÍTULO 1 - INFLUÊNCIA DE *L. plantarum* AJ2 E *S. xylosum* U5 NA FERMENTAÇÃO E NO PERFIL VOLÁTIL DE EMBUTIDO PRODUZIDO COM ASSOCIAÇÃO DE CARNE SUÍNA E DE FRANGO.

**INFLUÊNCIA DE *L. plantarum* AJ2 E *S. xylosus* U5 NA FERMENTAÇÃO E NO PERFIL VOLÁTIL DE EMBUTIDO PRODUZIDO COM ASSOCIAÇÃO DE CARNE SUÍNA E DE FRANGO
(LWT Food Science and Technology)**

Fábio José Mattei^a, Teresinha Marisa Bertol^b, Anildo Cunha Junior^b, Vicky Lilge Kawski^b, Sheila Mello da Silveira^c, Wladimir Padilha da Silva^a, Ângela Maria Fiorentini^a

^a*Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Laboratório de Microbiologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel - Universidade Federal de Pelotas, RS - Brasil.*

^b*EMBRAPA SUÍNOS e AVES, BR 153, km 110, 89700-000, Concórdia, SC, Brasil.*

^c*Laboratório de Microbiologia de Alimentos, Instituto Federal Catarinense – Campus Concórdia, SC 238 - Km 08 - Vila Fragosos - Concórdia – SC – Brasil*

RESUMO

O objetivo desta pesquisa foi monitorar a viabilidade de culturas iniciadoras nativas (bioma local) em embutido fermentado elaborado a partir da associação de carne suína e de frango, verificar a sua contribuição tecnológica na acidificação e formação de compostos voláteis, bem como verificar a aceitação sensorial do embutido. Foram realizados três tratamentos, tratamento (T0), sem adição de culturas iniciadoras, tratamento (T1) inoculado com culturas nativas, e tratamento (T2), inoculado com culturas comerciais. As amostras foram monitoradas desde a fabricação até o término da maturação (35 dias). As culturas iniciadoras adicionadas se mantiveram viáveis durante o período de fermentação/maturação do embutido. Nas análises físico-químicas, o pH do T1 teve queda mais acentuada durante o período de fermentação do que o T0 e T2. O tratamento T2 apresentou uma a_w final significativamente maior ($p < 0,05$) que os tratamentos T0 e T1. Quanto aos valores de acidez o tratamento T0 apresentou resultados significativamente inferiores ($p < 0,05$) aos apresentados pelos tratamentos T1 e T2. Os resultados no produto final (35 dias de maturação) de composição centesimal, quebra de peso, força de cisalhamento, nitrito residual, cor, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico e sódio residual, não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os tratamentos. Quanto ao perfil de compostos voláteis, foram identificados em todos os tratamentos além de terpenos e compostos sulfurados, também aldeídos, alcoóis, cetonas, ácidos, éteres e ésteres, todavia o tratamento T2 diferiu dos demais devido ao percentual de área relativamente inferior dos ácidos e álcoois. Em conclusão, as culturas nativas sobreviveram no embutido, contribuindo da mesma forma que as culturas comerciais para propriedades tecnológicas desejadas.

Palavras-chave: Carne de frango. *Lactobacillus plantarum*. *Staphylococcus xylosus*. Embutido fermentado. Compostos voláteis.

1 Introdução

Segundo dados do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA, no Brasil em 2012, o consumo *per capita* de carnes estimado foi de 43,9 kg para carne de aves, 37,4 kg para carne bovina e 14,1 kg de carne suína. Segundo projeções feitas pelo MAPA para o período entre 2013 e 2023, além da carne de frango continuar sendo a mais produzida no país, à mesma apresentará um aumento na produção de 46,4% (BRASIL, 2013).

Visando ampliar a diversidade de produtos, observada a necessidade de conservação da carne e aproveitamento das matérias-primas disponíveis, como é o caso da carne de frango no Brasil, uma alternativa possível é a produção de embutidos.

A fermentação é um dos processos utilizados na produção de embutidos fermentados, sendo que a mesma é realizada por micro-organismos, pode ser espontânea quando realizada pela microbiota intrínseca ou controlada quando empregado micro-organismos conhecidos com intuito de obter produtos seguros microbiologicamente, padronizados e com melhores aspectos sensoriais (ESSID et al., 2007).

Responsáveis principalmente pela acidificação do meio em embutidos cárneos fermentados as bactérias ácido lácticas (BAL) mais usadas são *Lactobacillus plantarum*, *L. casei*, *L. sakei*, *Pediococcus pentosaceus* e *P.acidilactici*. Além das BAL, *Staphylococcus* coagulase negativa (Família Staphylococcaceae), tais como *Staphylococcus xylosus* e *S. carnosus* podem ser utilizados em associação com as BAL buscando a geração de compostos voláteis que contribuam positivamente para o *flavor* do embutido (Lucke, 1994; Essid, Ismail, Ahmed, Ghedamsi & Hassouna, 2007; Sawitzki, Fiorentini, Cunha, Bertol & Sant'anna, 2008; Fiorentini, Sawitzki, Bertol, Cunha & Sant'anna, 2010).

Lactobacillus plantarum, é importante na fermentação devido a capacidade de acidificar o meio, tornando-o impróprio para micro-organismos indesejados, essa acidificação também facilita a liberação de enzimas tissulares que juntamente com enzimas microbianas atuam na formação de compostos voláteis (Terra, Fries &

Terra, 2004; Ordóñez et al. 2005; Sawitzki et al., 2007, 2008; Sawitzki, Fiorentini, Bertol & Sant'anna, 2009).

Staphylococcus xylosus é caracterizado como cocos Gram positivos e catalase positivo (CNS) apontado como importante cultivo iniciador na fabricação de embutidos fermentados, produz bacteriocinas, apresenta atividade lipolítica e proteolítica o que contribui para a formação de compostos voláteis, a produção de catalase é importante na decomposição de peróxidos e previne a oxidação lipídica. (Essid et al., 2007; Fiorentini et al. 2009, 2010).

A aceitação de produtos cárneos depende em grande parte do seu sabor, determinado principalmente pelo gosto e pelos compostos voláteis, constituintes do aroma deste modo o conhecimento do perfil volátil resultante da ação de enzimas endógenas e microbianas durante a maturação do embutido é importante para o melhor entendimento sobre o comportamento das culturas utilizadas (Bacus, 1984; Berdagué, Monteil, Montel & Talon, 1993).

Culturas iniciadoras para serem aplicadas em alimentos não devem ser patogênicas, tóxicas nem alergênicas; devem possuir fenótipo e genótipo estáveis; devem ser competitivas em condições típicas do processo (tolerância ao sal, nitrito, baixo pH e atividade de água, temperatura de processo) devem fornecer alguns benefícios tecnológicos (na acidificação, preservação, formação do flavor, garantia da qualidade), e ser identificáveis por métodos específicos (Hammes & Hertel, 1998).

Neste contexto Sawitzki et al. (2007) e Fiorentini, et al. (2009), isolaram a partir de embutidos naturalmente fermentados na região Sul do Brasil *Lactobacillus plantarum* AJ2 e *Staphylococcus xylosus* U5, caracterizaram-as e confirmaram a possibilidade de seu uso como culturas iniciadoras na produção de salame tipo Milano (Sawitzki et al., 2008; Fiorentini et al., 2010).

O objetivo desta pesquisa foi monitorar a viabilidade de culturas iniciadoras nativas em embutido fermentado elaborado a partir da associação de carne suína e de frango, verificar a sua contribuição tecnológica na acidificação e formação de compostos voláteis, bem como verificar a aceitação sensorial do embutido desenvolvido nesta pesquisa.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Delineamento experimental

O experimento foi realizado em duplicata, com três tratamentos cada réplica. Os tratamentos diferenciaram entre si pelas culturas iniciadoras sendo: Tratamento controle (T0), sem adição de culturas iniciadoras; Tratamento 1 (T1), adição de culturas nativas (*Lactobacillus plantarum* AJ2 e *Staphylococcus xylosus* U5) e Tratamento 2 (T2), com adição de culturas comerciais (Bactoferm T-SPX - CHR. Hansen).

2.2 Obtenção das culturas iniciadoras nativas

As culturas iniciadoras *L. plantarum* AJ2 e *S. xylosus* U5 utilizadas neste estudo foram isoladas a partir de embutidos naturalmente fermentados, da Região Sul do Brasil e caracterizadas por Sawitzki et al. (2007) e Fiorentini et al. (2009), respectivamente. As mesmas estavam armazenadas a – 80 °C e, para obtenção da massa celular necessária para realização da presente pesquisa, o *L. plantarum* AJ2 foi inoculado em caldo MRS (Man, Rogosa e Sharpes; Merck, Darmstadt, Germany) e o *S. xylosus* U5 em caldo BHI (Brain Heart Infusion; Merck, Darmstadt, Germany), incubação em *Shaker* (Agimax modelo AG-45) a 37 °C com agitação de 1,5 g durante 8 horas. Após a massa celular foi concentrada por centrifugação (6600 g / 8 min / 4 °C), e posteriormente liofilizada. Para a aplicação na massa cárnea, as culturas liofilizadas foram ressuspensas em água destilada a 37 °C durante 30 min.

2.3 Fabricação do embutido

O embutido foi produzido na planta de processamento de alimentos do Instituto Federal Catarinense - Campus Concórdia (Concórdia-SC) conforme formulação descrita por Mattei (2011). A parcela cárnea dos três tratamentos

elaborados constou de: 60% de carne suína (pernil), 30% de carne de frango (coxa com sobrecoxa desossada e sem pele) e 10% de gordura costolombar suína, os demais ingredientes foram calculados levando em consideração a quantidade de carne gordura, e suas participações foi: sal (Diana) 2,7%, sacarose (União) 0,4%, cura para salame (Kraki) 0,3%, fixador de cor (Kraki A-80) 0,25%, glutamato monossódico (Conatril), 0,25%, alho desidratado (Conatril), 0,2% e pimenta branca moída (Mon Chef), 0,01%. Caracterizando os tratamentos *L. plantarum* AJ2 e *S. xylosus* U5 foram adicionados em um dos três tratamentos (T1), no tratamento controle (T0), não foi adicionado culturas iniciadoras e o tratamento (T2) contou com adição de culturas iniciadoras comerciais (Bactoferm T-SPX - CHR Hansen).

A moagem das carnes e a gordura costolombar (ambas congeladas) foi realizada em disco 8 mm, após período de repouso da massa cárnea adicionada de ingredientes e culturas iniciadoras (T1 e T2), por 2 horas a temperatura de 5 °C, procedeu-se o embutimento em tripas artificiais (Fibran, NBD000, Colágeno cal. 50 mm) previamente higienizadas em solução de ácido acético a 2 % (v/v), sendo que cada peça teve peso final aproximado após o embutimento de 250 g.

2.4 Procedimento de amostragem

Cada repetição do experimento, composta por três tratamentos, teve duração de 35 dias entre a elaboração e o produto final, visando minimizar as alterações pelas variáveis intervenientes (umidade, temperatura e velocidade do ar) nas duas repetições as amostras foram fermentadas/maturadas simultaneamente na mesma câmara de maturação, de acordo com as condições propostas por Terra (1998).

Para execução das análises físico-químicas e microbiológicas duas amostras (peças) de cada tratamento foram coletadas aleatoriamente nos tempos de fermentação/maturação 0, 3, 5, 7, 14, 21, 28 e 35 dias.

2.5 Análises físico-químicas

As análises de pH, acidez, atividade de água (a_w) e quebra de peso foram realizadas nos tempos de fermentação/maturação 0, 3, 5, 7, 14, 21, 28 e 35 dias. As análises de pH e acidez titulável seguiram metodologia conforme Association of Official Analytical Chemists [AOAC], (2000). A análise de a_w foi efetuada com auxílio de aparelho *LabMaster* – a_w Novasina, com temperatura programada na câmara de leitura de 25 °C. Para acompanhar a quebra de peso do embutido duas peças de cada tratamento (T0, T1 e T2) foram identificadas após o embutimento e pesadas (Balança Digimed, modelo 3000/15) nos dias 0, 3, 5, 7, 14, 21, 28 e 35 dias após a fabricação, estabelecendo-se como quebra de peso a diferença entre o peso das mesmas peças em cada tempo de coleta.

No tempo de maturação 35 dias foram realizadas as análises de matéria seca, cinzas, proteína bruta, lipídeos (AOAC, 2000) e sódio residual de acordo com Granadillo et al., (1995) conforme descrito por Fiorentini et al. (2010), nos tempos de fermentação/maturação 0 e 35 dias, foi realizada a análise de nitrito de sódio. Para a extração foi realizada pesagem de 3 g da amostra, adição de 5 ml de tetraborato decahidratado (Sigma) 5% (m/v) e 20 ml de água a temperatura de 80 °C. Procedeu-se a homogeneização com auxílio de bastão de vidro, seguindo para banho-maria a 80 °C por 30 minutos com agitações ocasionais. Após tempo de banho, a solução foi filtrada quantitativamente para balão volumétrico e completado com água deionizada. Uma alíquota foi retirada e filtrada com membrana descartável (MILLEX HV 0,45 µm 25 mm de diâmetro), seguindo para leitura. A determinação da concentração de nitrogênio na forma de nitrito foi feita pelo método espectrofotométrico baseado na Reação de Griess, usando um sistema de análise por injeção em fluxo com aparelho (FIALab® Instruments - modelo 2500 system).

No tempo final de maturação (35 dias) para a determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA) foram adaptadas às metodologias propostas por Raharjo, Sofos & Schmidt (1992), e Yildiz-Turp & Serdaroglu (2010). Foram pesadas 3 g de cada amostra, adicionadas 18 ml de uma solução de ácido tricloroacético 5% (m/v) e 0,5 ml de uma solução de BHT (Butil hidróxi tolueno) 0,15% (m/v). A mistura foi homogeneizada por 1 minuto em agitador vortex (ATS 100

– Arsec – SP, Brasil) e centrifugada a 6600 g por 6 minutos a 4 °C (Eppendorf, modelo Centrifuge 5430 R). O sobrenadante foi retirado com auxílio de pipeta e passado para balão volumétrico de 25 ml. O volume do balão de 25 ml foi completado com ácido tricloroacético 5% (m/v) e a solução foi homogeneizada. A seguir, foram retirados 2 ml da solução do balão, aos quais foram adicionados 2 ml de solução de ácido tiobarbitúrico 0,08 M (m/v) em solução de ácido acético 50 %, em tubo de ensaio. Os tubos foram fechados e colocados em banho-maria a 80 °C por 30 minutos. Após resfriamento, foi realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro (SP 220, Biospectro, São Paulo, Brasil) a 531 nm. A absorbância lida foi multiplicada pelo fator 7,8. O resultado foi expresso em miligramas de malonaldeído por quilograma de amostra.

No produto pronto (35 dias de maturação) foram efetuadas as análises de cor com o uso de um colorímetro Minolta (Minolta Câmera LTDA, Japão) no padrão CIE L*a*b* e a textura foi determinada seguindo a metodologia proposta por Honikel (1998), usando texturomêtro TA.XT. (Plus Texture Analyser equipado com probe HDP/WBV).

2.5.1 Análises cromatográficas de compostos voláteis

Para as análises cromatográficas seguiu-se a metodologia descrita por Summo, Caponio, Tricarico, Pasqualone, & Gomes, (2010) com adaptações, estas descritas nos itens 2.5.1.2 e 2.5.1.3.

2.5.1.2 Fibra e amostragem

Foram pesados em vials de 10 ml (Supelco) 2 g da amostra de embutido e encaminhadas para bloco de aquecimento (Fisatom Mod. 22 M), permanecendo por uma hora para equilíbrio do *headspace*. Após uma hora no bloco de aquecimento a temperatura de 35 °C a fibra (Supelco) DVB/CAR/PDMS (diviny lbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane, 2 cm-50/30 µm) foi exposta no *headspace* durante 30 minutos. Antes de cada exposição da fibra ao *headspace* a mesma foi exposta no injetor do CG a temperatura de 270 °C durante 15 minutos.

2.5.1.3 Procedimentos cromatográficos

Para a detecção dos compostos voláteis foi utilizado cromatógrafo gasoso (CG Shimadzu – 2010) acoplado a espectrometro de massa (CG-MS- QP2010 Shimadzu). A dessorção térmica dos compostos voláteis da fibra de SPME de cada extração foi realizada com tempo de amostragem de 3 minutos no injetor, tipo *split/splitless* operando no modo *splitless*. A separação dos compostos foi realizada em uma coluna capilar de sílica fundida (SupelcoWax 10), 30 m x 0,25 mm x 0,25 μm , de fase estacionária de polietilenoglicol, seguindo as condições: temperatura do injetor, 230 °C, pressão do gás de arraste (hélio), 41,8 kPa, a programação de temperatura de aquecimento da coluna iniciou-se a 40 °C e foi mantida por 8 minutos, em seguida, iniciou-se um aquecimento gradativo de 4 °C.min⁻¹, até atingir 210 °C temperatura a qual foi mantida por 10 minutos. O fluxo total foi de 30,9 ml.min⁻¹, o fluxo da coluna foi de 0,90 ml.min⁻¹, e a velocidade linear foi de 34,2 cm.seg⁻¹. A interface do CG-MS foi mantida a 250 °C. O detector de massas foi operado no modo de ionização por elétrons (230 °C), utilizando o modo de varredura m/z de 30 a 200 u.m.a.. A identificação dos picos foi realizada com o auxílio da biblioteca informatizada de espectros de massas (NIST 05). Para o cálculo do índice de retenção experimental, injetou-se uma amostra padrão de solução de hidrocarbonetos C7-C30 Saturated Alkanes Std (Supelco analytical, Sigma-Aldrich, Steinhein, Alemanha), os quais foram analisados com o equipamento obedecendo à mesma programação das amostras.

Após ter-se o resultado dos tempos de retenção desta amostra padrão, calculou-se o índice de retenção experimental de cada composto encontrado nas amostras analisadas pela fórmula de Van den Dool e Kratz (Apêndice A).

2.6 Monitoramento das culturas

Para o monitoramento das culturas inoculadas no embutido durante o experimento, bem como o desenvolvimento da microbiota intrínseca no caso do tratamento controle, foram realizadas nos tempos de fermentação/maturação 0, 3, 7, 14, 21, 28 e 35 dias, análises de contagem de BAL e contagem de CNS.

2.7 Análises microbiológicas

No tempo de maturação 35 dias, foram efetuadas as análises de coliformes termotolerantes, *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* coagulase positiva, de acordo com os parâmetros estabelecidos pela Legislação Brasileira (Brasil, 2001), conforme metodologia da American Public Health Association [APHA] (1992).

2.8 Análise Sensorial

A avaliação sensorial foi executada aos 35 dias de fermentação/maturação do embutido. O método usado para avaliação de preferência foi escala hedônica de 9 pontos, (ABNT, NBR14141, 1998). Também foi indagada aos participantes a intenção de compra utilizando uma escala verbal e numérica de 7 pontos (ABNT, NBR14141, 1998). O estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa (UFPel) e aprovado conforme processo número 14099213.1.0000.5317.

2.9 Análise estatística

Os dados foram analisados através do modelo de medidas repetidas, utilizando o procedimento MIXED do SAS™ (2008), conforme Xavier (2000). Foram testadas 15 estruturas de variância e covariância e escolheu-se a que apresentou menor valor para o Critério de Informação de Akaike (AIC). Ainda, os efeitos de lote (experimento), tempo de maturação, tratamento e a interação tempo de maturação/tratamento foram testados. O desdobramento do efeito de tratamento foi realizado através do teste *t* a significância de 5% ($p < 0,05$).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

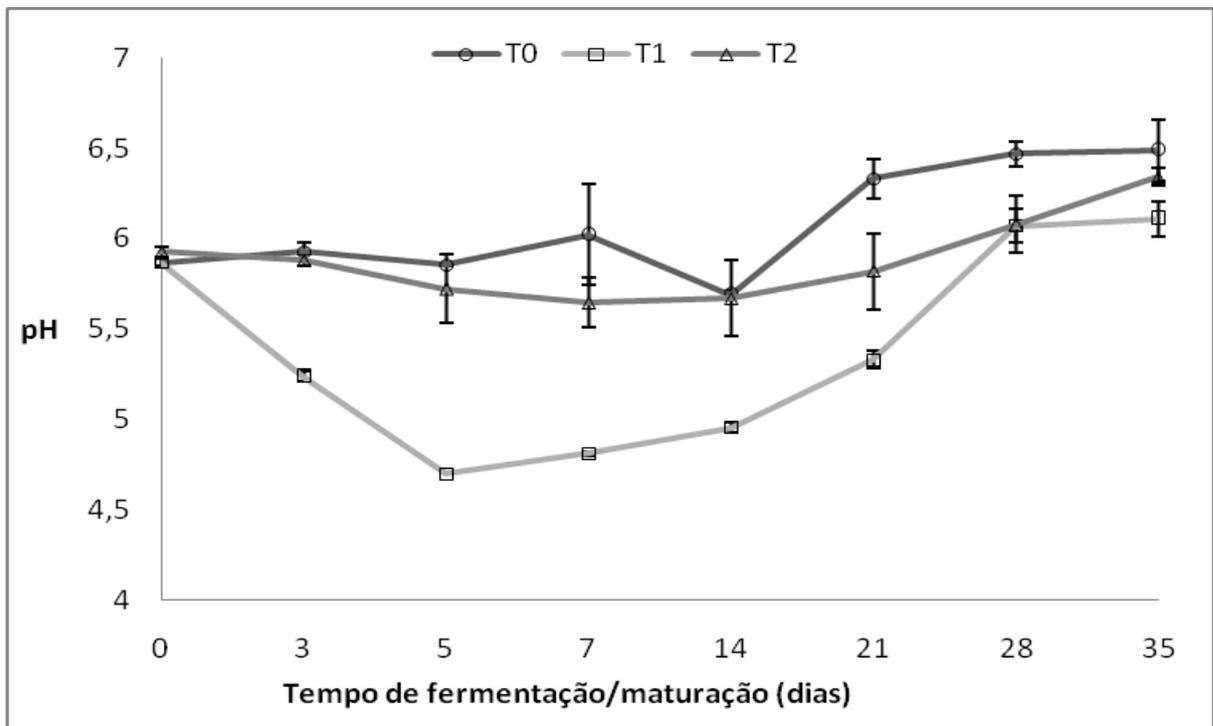
3.1 Análises físico-químicas

3.1.1 pH

Os valores de pH encontrados neste experimento são ilustrados na Figura 6, no tempo inicial de fermentação/maturação (dia 0) foram semelhantes ($p > 0,05$) entre os três tratamentos (Apêndice B), todavia o tratamento T1 apresentou do terceiro dia (3°) de fermentação/maturação até o vigésimo primeiro dia (21°), pH significativamente inferior ($p < 0,05$) aos demais tratamentos. Esta queda mais acentuada de pH também foi verificada por Sawitzki et al. (2008), estudando as propriedades de salame Tipo Milano inoculado com *Lactobacillus plantarum* AJ2. A queda do pH até o 7° dia (fermentação) é imprescindível para a produção de embutidos de qualidade, pois além da inibição de micro-organismos indesejáveis, ocorre também contribuição para a conversão e estabilização da cor e ainda, em pH baixo, acontece além da liberação de água pelo alcance do ponto isoelétrico das proteínas miofibrilares, liberação de enzimas contidas no lisossomo das células, as quais atuam degradando principalmente proteínas e lipídios, contribuindo assim para coloração e sabor característico do embutido (Papamanoli, Tzanetakis, Litopoulou-Tzanetaki & Kotzekidou, 2003; Terra et al. 2004; Ordoñez et al. 2005).

Porém, no tempo final de maturação não foi verificada diferença significativa entre os tratamentos ($p > 0,05$). O fato do pH do tratamento T1 após o 5° dia de fermentação/maturação ter aumentado pode ser explicado por Terra et al. (2004) os quais observaram que a partir do sétimo dia de fabricação, os valores de pH sofreram aumento em razão das reações de descarboxilação e da desaminação dos aminoácidos, liberando amônia e alcalinizando o meio. No entanto, o pH pode sofrer nova redução em razão da lipólise, que libera ácidos graxos no meio.

Figura 6 - Demonstrativo da variação do pH nos tratamentos durante período de fermentação/maturação do embutido.



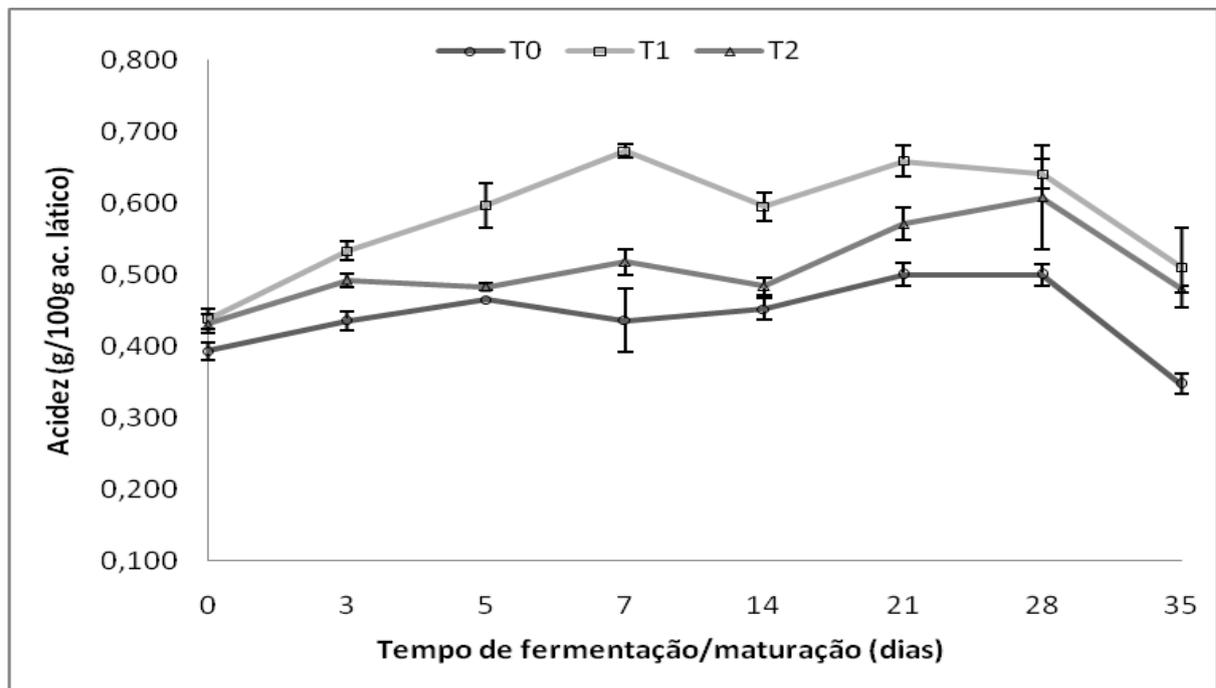
Os valores apresentados representam a média \pm erro-padrão de duas réplicas experimentais. T0 (sem adição de culturas iniciadoras), T1 (adição de culturas iniciadoras nativas), T2 (adição de culturas iniciadoras comerciais).

3.1.2 Acidez

Quanto aos resultados de acidez (Figura 7), observou-se diferença ($p < 0,05$) entre os tratamentos (Apêndice B) logo nos primeiros dias de fermentação/maturação, isto provavelmente se deve ao tempo decorrido entre inoculação das culturas na massa cárnea e a análise, neste tempo as culturas iniciaram a acidificação do meio. O tratamento T1 mostra valores nos tempos de fermentação/maturação 0, 5, 7, 14 e 21 dias significativamente superiores ($p < 0,05$) indicando maior potencial de acidificação do meio pela cultura nativa de *L. plantarum* AJ2, porém no tempo final de maturação (35 dias) o tratamento T1 e o Tratamento T2 não apresentaram diferenças significativas entre si ($p > 0,05$), no entanto ambos diferem do tratamento T0 ($p < 0,05$), comprovando maior poder de acidificação para tratamentos elaborados com culturas iniciadoras. A acidificação é muito importante, pois, inibe a microbiota indesejada, atinge o ponto isoelétrico das proteínas fazendo

com que o embutido libere água, diminuindo assim a atividade de água e conferindo propriedades como a fatiabilidade ao mesmo (Ordoñez et al. 2005). Sawitzki et al. (2008), testando *L. plantarum* AJ2 em salame Tipo Milano encontrou resultados de $1,00 \pm 0,06$ g/100g ácido láctico, resultados superiores ao encontrado neste estudo para o tratamento T1 (inoculado com *L. plantarum* AJ2), de $0,510 \pm 0,06$ g/100g ácido láctico. Valores de 0,4 g/100g ácido láctico foram encontrados por Carioni, Porto, Padilha e Sant'anna (2001), testando efeito da adição de *L. plantarum* em embutido fermentado com adição de carne de pato, valores estes que estão próximos aos encontrados neste estudo.

Figura 7 - Demonstrativo da variação de acidez nos tratamentos durante período de fermentação/maturação do embutido.



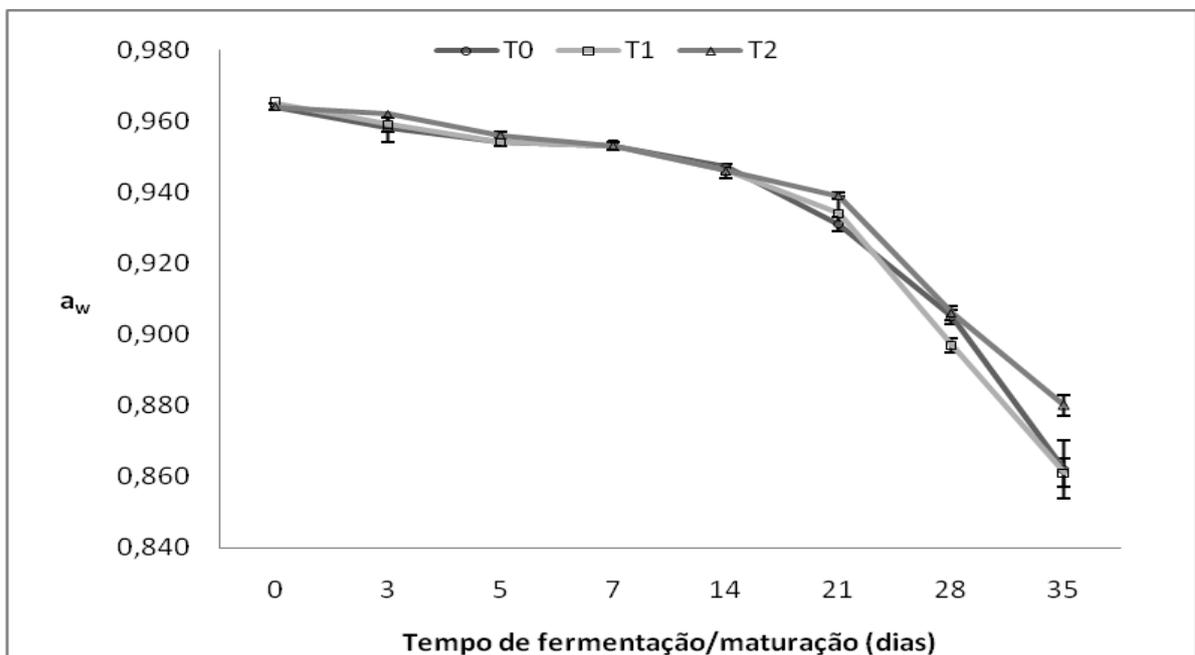
Os valores apresentados representam a média \pm erro-padrão de duas réplicas experimentais. T0 (sem adição de culturas iniciadoras), T1 (adição de culturas iniciadoras nativas), T2 (adição de culturas iniciadoras comerciais).

3.1.3 Atividade de água (a_w)

Os valores de a_w foram reduzindo gradativamente no decorrer do período de fermentação/maturação, em todos os tratamentos (Figura 8). Nota-se ainda que o tratamento T2 finalizou a maturação com valores de a_w superiores ($p < 0,05$) àqueles

apresentados pelos demais tratamentos (Apêndice B). Os valores encontrados neste estudo estão em acordo com o regulamento técnico de identidade e qualidade do salame (Brasil, 2000), valores esses, que devem ser no máximo de 0,92 para salame e 0,90 para salame Tipo Italiano. Estes valores finais de a_w são considerados satisfatórios, pois a maior parte das bactérias deteriorantes não se multiplica em a_w inferiores a 0,91, assim sendo a redução de a_w auxilia na conservação do produto (Jay, 2005). O mesmo autor ressalta que a a_w , além do pH e umidade residual, é um fator importante na limitação da viabilidade e multiplicação de micro-organismos patogênicos, tais como o *Staphylococcus aureus*. Tabanelli et al. (2012), estudando os efeitos de culturas iniciadoras e diferentes condições climáticas de fermentação em dois tipos de salames típicos da Itália, fabricados sobre condições industriais, encontrou valores finais de a_w 0,85 e 0,87, sendo estes semelhantes aos encontrados neste estudo.

Figura 8 - Demonstrativo da variação de a_w nos tratamentos durante período de fermentação/maturação do embutido.

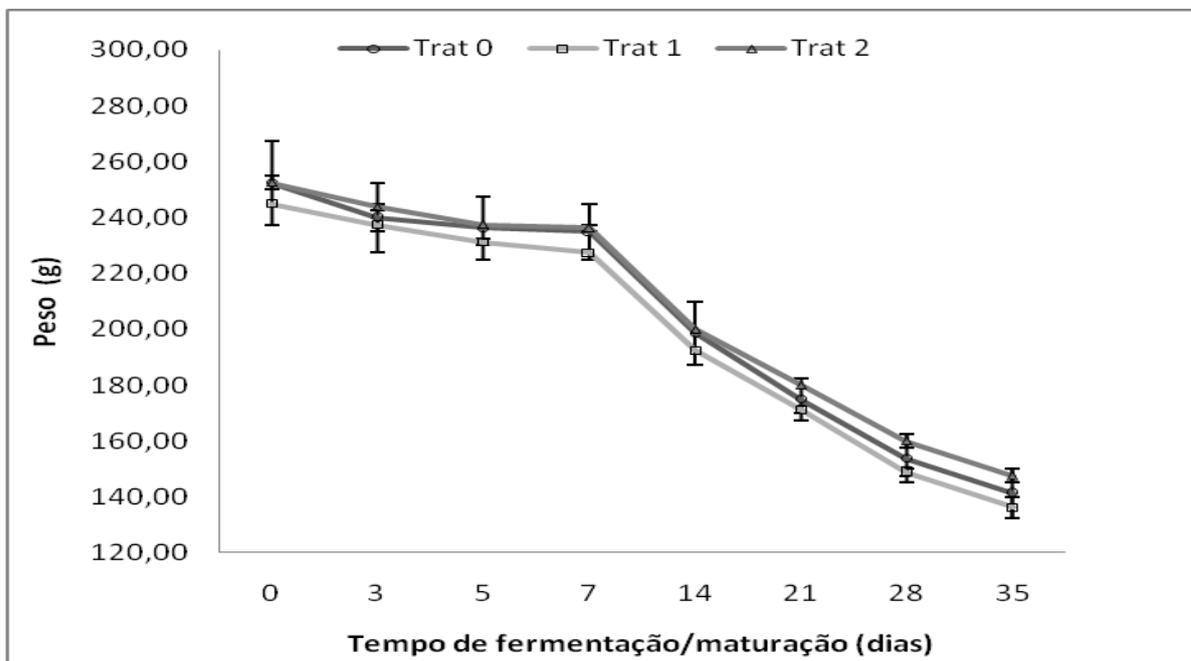


Os valores apresentados representam a média \pm erro-padrão de duas réplicas experimentais. T0 (sem adição de culturas iniciadoras), T1 (adição de culturas iniciadoras nativas), T2 (adição de culturas iniciadoras comerciais).

3.1.4 Quebra de peso

A desidratação dos embutidos fermentados é uma consequência natural do seu processo de fabricação. A quantidade de água eliminada pelo processo de fermentação/maturação pode ser mensurada pela variação de peso do embutido durante este intervalo de tempo, sendo que esta variação depende de alguns fatores como temperatura, umidade relativa no interior da câmara de maturação e do tempo de processamento (Garcia, Gagleazzi & Sobral, 2000). Neste estudo os tratamentos não apresentaram diferença significativa entre si ($p > 0,05$) (Apêndice B). Os dados estão ilustrados na Figura 9, o tratamento T1 apresenta dados finais numericamente inferiores àqueles referentes aos demais tratamentos. Isto pode ser explicado pelos valores de pH inferiores ($p < 0,05$) verificados entre o 3^o dia de fermentação/maturação até o 21^o dia, bem como aos valores de acidez maiores ($p < 0,05$) encontrados nos tempos de fermentação/maturação 1, 5, 7, 14 e 21 dias, visto que valores de pH e acidez contribuem para a perda de água do embutido bem como para suas características sensoriais (Lücke, 1994).

Figura 9 - Demonstrativo da variação de quebra de peso nas peças dos tratamentos durante período de fermentação/maturação do embutido.



Os valores apresentados representam a média \pm erro-padrão de duas réplicas experimentais. T0 (sem adição de culturas iniciadoras), T1 (adição de culturas iniciadoras nativas), T2 (adição de culturas iniciadoras comerciais).

3.1.5 Composição centesimal

3.1.5.1 Umidade

Os tratamentos não diferiram entre si no tempo final de maturação ($p > 0,05$) (Tabela 3) em relação à umidade, porém o tratamento T2 apresenta dados finais de $40,75 \pm 2,23$ g/100g, dados estes em desacordo com o regulamento técnico de identidade e qualidade do salame (Brasil, 2000), o qual estipula um máximo de 40 g/100g de umidade no produto final. Este comportamento provavelmente está associado ao fato das culturas comerciais não estarem adaptadas a este tipo de embutido, pois quando observada a queda de pH nos primeiros dias de fermentação/maturação e aumento na acidez do embutido nota-se que o tratamento T1 foi mais positivo quanto a estes aspectos tecnológicos, proporcionando maior perda de água. Todavia estes resultados não influenciaram na a_w final do produto, que se apresenta com dados aceitáveis pela legislação (Brasil, 2000). Resultado semelhante foi encontrado por Lima (2009) ao elaborar e caracterizar salame de cordeiro Santa Inês. O autor verificou umidade final variando entre 44 e 59 g/100g. Outros fatores que podem ter influenciado são a temperatura, umidade relativa e velocidade do ar na câmara de maturação durante o período de fermentação/maturação.

3.1.5.2 Proteína, Gordura, cinzas e sódio.

Os resultados finais de proteína, gordura, cinzas e sódio encontrados neste experimento não diferiram significativamente entre si ($p > 0,05$) (Tabela 3). Neste sentido, com exceção do tratamento T2 (devido ao teor de umidade numericamente acima do permitido) os tratamentos T0 e T1 poderiam ser enquadrados como salame pela legislação, pois os mesmos estão de acordo com o preconizado por esta (Brasil, 2000). Quanto ao teor de proteína, gordura, cinzas e sódio, Fiorentini et al. (2010), estudando a influência de um isolado nativo de *Staphylococcus xylosus* U5 nas características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais de salame Tipo Milano, encontrou resultados semelhantes ao do presente estudo e estes também corroboram com os reportados por Sawitzki et al., (2008) investigando as propriedades tecnológicas de *Lactobacillus plantarum* AJ2 em salame Tipo Milano.

3.1.6 Nitrito residual

Os efeitos do nitrito em embutidos cárneos podem ser resumidos como a formação da cor vermelha característica de produtos curados, responsável pela inibição do crescimento de bactérias deteriorantes e patogênicas (*Clostridium botulinum*), contribuição para o desenvolvimento de *flavor* típico de carne curada e por retardar a rancificação oxidativa (Marco, Navarro, & Flores, 2006). Todavia deve ser observada a quantidade de nitrito residual no produto acabado, pois a legislação brasileira (Brasil, 1998) estabelece como máximo a quantidade de 150 mg.kg^{-1} de nitrito. Isso se deve ao fato do nitrito, quando presente em concentrações específicas, manifestar no consumidor efeitos alérgicos, vasodilatadores, metemoglobinemia em recém-nascidos e, no alimento, formação de nitrosaminas que possuem efeito carcinogênico (Cammack et al. 1999; Marco et al. 2006). Os valores residuais de nitrito encontrados neste estudo são apresentados na Tabela 3. No tempo 0 dias de fermentação/maturação, os valores iniciais de nitrito eram próximos a 115 mg.kg^{-1} para todos os tratamentos, sendo este reduzido ao longo da fermentação/maturação para valores não diferentes significativamente ($p > 0,05$) entre os tratamentos e aceitáveis pela legislação brasileira (Brasil, 1998). Provavelmente essa redução nos níveis de nitrito está associada ao efeito sinérgico do meio acidificado gradativamente pelas BAL e a ação de bactérias da família *Staphylococcaceae* que possuem atividade nitrato e nitrito redutase, transformando o nitrito em ácido nitroso e em óxido nítrico, contribuindo assim para a segurança microbiológica e formação da cor desejada, estas reações ocorrem mais rapidamente em pH mais baixos (Lucke, 1994; Cammack et al., 1999; Sawitzki et al. 2008; Fiorentini et al. 2009).

3.1.7 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

O teste de TBARS quantifica o malonaldeído, um dialdeído de três carbonos, com grupos carbonilas nos carbonos C-1 e C-3. Esse composto é um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poli-insaturados, formado durante o processo oxidativo, e está associado ao sabor de ranço nos alimentos (Raharjo, Sofos & Schmidt, 1992; Yildiz-Turp & Serdaroglu, 2010).

Quanto às substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (Tabela 3), não foi verificada diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos. Mesmo sem verificar diferença, o tratamento T1 apresentou valores numericamente superiores aos 35 dias de maturação. Os valores encontrados na presente pesquisa são considerados baixos para percepção sensorial, não causam riscos a saúde do consumidor e não comprometem a qualidade sensorial do embutido além de alguns compostos oriundos da lipólise poderem ser precursores de *flavor* em embutidos fermentados (Zanardi, Dorigoni, Badiani, & Chizzolini, 2002; Campos, et al., 2007; Sawitzki et al., 2009). Sugere-se que a ação lipolítica do *Staphylococcus xylosus* U5 usado como cultura iniciadora contribui positivamente para a formação de compostos precursores do *flavor*.

Tabela 3 - Variações físico-químicas durante período de fermentação/maturação do embutido.

Variável	Tratamentos			Pr>F
	T0	T1	T2	
Umidade (g/100g)	36,36±0,24	38,62±0,25	40,75±2,23	0,2395
Proteína (g/100g)	30,24±0,61	29,13±0,55	28,22±0,15	0,0666
Gordura (g/100g)	27,33±0,29	25,88±0,71	24,40±0,65	0,2490
Cinzas (g/100g)	6,92±0,08	6,68±0,02	6,56±0,034	0,5659
Sódio residual (g/100g)	3,01±0,05	2,77±0,06	2,77±0,22	0,4845
Nitrído residual (mg/kg)	3,27±0,51	2,16±0,08	2,03±0,30	0,3763
TBARS (mg MAD.kg ⁻¹)	0,776±0,113	1,56±0,25	1,06±0,20	0,1962

Os valores apresentados representam as médias \pm erro padrão de duas replicas. Quando Pr>F menor que 0,05 existe diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos pelo Teste t. T0 (sem inoculação de culturas), T1 (inoculado com culturas nativas), T2 (inoculado com culturas comerciais).

3.1.8 Cor

Os valores de cor encontrados neste estudo estão apresentados na Tabela 4. Não foi verificada diferença significativa entre os tratamentos para os valores de L* (Luminosidade), a* (tendência ao vermelho) e b* (tendência ao amarelo). Sawitzki

et al. (2008) e Fiorentini et al. (2010), quando avaliaram salame Tipo Milano, elaborado com carne suína e bovina, encontraram valores de L* e b* próximos aos encontrados no presente estudo, porém os valores de a* encontrados por estes autores foram superiores aos do presente estudo. A formação de nitrosomioglobina, pigmento responsável pela coloração desejada encontrada nos produtos cárneos, depende da concentração de mioglobina no músculo (Ordóñez et al. 2005). Cavenagui (2005) aponta diferentes teores de mioglobina para as carnes de frango (escura), suína e bovina como 0,6 a 2 g.kg⁻¹, 1,5 a 7 g.kg⁻¹, 2,5 a 10 g.kg⁻¹ respectivamente justificando os valores de a* inferiores, devido ao teor menor de mioglobina na carne de frango utilizada neste estudo.

Tabela 4 - Variações de cor aos 35 dias de fermentação/maturação do embutido.

Variável	Tratamentos			Pr>F
	T0	T1	T2	
L	50,26±0,90	50,88±0,98	47,87±0,62	0,2431
a*	5,50±0,03	6,24±0,32	5,87±0,73	0,4825
b*	5,02±0,18	4,11±0,05	4,15±0,40	0,1088

Os valores apresentados representam as médias ± erro padrão de duas replicas. Quando Pr>F menor que 0,050 existe diferença significativa (p<0,05) entre os tratamentos pelo Teste t. T0 (sem inoculação de culturas), T1 (inoculado com culturas nativas), T2 (inoculado com culturas comerciais).

3.1.9 Textura

De acordo com Terra et al. (2004), o desenvolvimento da textura durante a fermentação/maturação é determinado pela queda do pH, pois as proteínas passam do estado solúvel para estado geleificado, e valores de pH próximos ao ponto isoelétrico das proteínas favorecem a desidratação e conferem fatiabilidade ao produto final. Os valores encontrados para textura nos tratamentos deste estudo foram 2,38±0,33, 2,72±0,06 e 2,42±0,11 kgf para os tratamentos T0, T1 e T2 respectivamente, não apresentando diferença (p>0,05) entre eles. Quando observado os valores de pH e acidez significativamente inferiores (p<0,05) no tratamento T1, durante boa parte da fermentação/maturação, os mesmos sugerem relativamente uma maior perda de peso para o tratamento T1. A diminuição de a_w do embutido é

um dos principais responsáveis pela conferência de textura ao mesmo (Fernández, Ordóñez, Bruna, Herranz, & de La Hoz, 2000), porém a perda de peso não foi significativa ($p>0,05$), justificando a similaridade de textura ($p>0,05$) entre os tratamentos.

3.2 Compostos voláteis

O perfil de compostos voláteis encontrado neste estudo está apresentado na Tabela 5. O Apêndice C, ilustra os cromatogramas representativos referentes aos respectivos tratamentos. Aos 35 dias de fermentação/maturação foram identificados e quantificados relativamente 41 compostos, correspondentes a 44, 48 e 49% do total de área para os tratamentos T0, T1 e T2, respectivamente. Os 41 compostos encontrados podem ser agrupados como sendo 16 (39%) compostos sulfurados e terpenos, 5 (12%) como aldeídos, 6 (14%) como cetonas, 8 (20%) como alcoóis, 2 (5%) como ésteres, 2 (5%) ácidos e 2 (5%) éteres. De acordo com os dados de pesquisas realizadas por Montel, Masson, & Talon, (1998); Moretti et al., (2004), em salames, os álcoois, aldeídos e terpenos estão entre os componentes voláteis mais abundantes.

Para Bacus (1984) as características da matéria-prima cárnea influenciam na formação de compostos voláteis em embutidos fermentados. Todavia, quando observado o perfil de compostos voláteis no embutido produzido com carne de frango e relacionando este com salames produzidos com carne suína ou suína e bovina, não foram revelados diferentes compostos em nenhum dos três tratamentos estudados.

Os compostos sulfurados e terpenos abrangem 45, 51 e 55% do total de área identificada, para os tratamentos T0, T1 e T2, respectivamente. Estes compostos são atribuídos ao uso de especiarias como alho e pimenta na condimentação de embutidos (Meynier, Novelli, Chizzolini, Zanardi, & Gandemer, 1999). Mateo e Zumalacarregui (1996) e Schmidt e Berger (1998) enfatizam que a condimentação de embutidos com alho pode originar compostos com enxofre e estes, por sua vez, apresentam grande impacto odorífero, enquanto que a pimenta contribui com os terpenos que não possuem uma expressão odorífera tão pronunciada.

Os compostos sulfurados, com destaque para o dialil disulfeto, foram os compostos majoritários em todos os tratamentos. A presença destes compostos sulfurados corrobora com resultados apresentados por Sunesen, Dorigoni, Zanardi, & Stahnke (2001) e Stahnke, Holck, Jensen, Nilsen e Zanardi (2002), onde os autores avaliaram a presença de compostos voláteis durante a maturação de salame. Dorigoni, Zanardi, & Stahnke (2001), sugerem em seu estudo que a provável origem do dialil disulfeto refere-se ao alho. Stahnke et al. (2002), verificaram correlação positiva entre compostos sulfurados e aroma de maturado e curado, porém o mesmo autor também ressalta que tais compostos possuem alto impacto odorífero e quando em grandes quantidades podem ser considerados *off-flavor*.

A presença do terpeno alfa-pineno foi verificada no tratamento T0, este terpeno possui odor semelhante à pimenta e provavelmente é oriundo do condimento, sua baixa expressividade pode estar relacionada com sua baixa proporção na massa cárnea, este terpeno é comumente encontrado em embutidos fermentados que levam especiarias em sua condimentação (Campos et al., 2007; Lorenzo, Montes, Purriños, & Franco, 2012).

Tabela 5 - Identificação e quantificação relativa (%) dos compostos voláteis aos 35 dias de maturação do embutido.

N	Composto	IRE	IRL	T0	T1	T2
Compostos oriundos de especiarias						
1	Allyl methyl sulfide	1009	956 ^a	11,75±0,02	12,42±1,95	14,81±1,59
2	Alfa-pinene	1037	1010 ^a	0,36±0,02	*	*
3	Bis(dichloromethyl)Ether	1042	*	3,37±0,02	2,56±1,54	0,95±1,04
4	Beta-pinene	1095	1085 ^a	0,49±0,12	0,78±0,17	0,65±0,20
5	Sabinene	1112	1133 ^a	0,78±0,09	0,88±0,34	0,96±0,22
6	3-carene	1141	1144 ^a	0,87±0,09	0,93±0,15	0,93±0,17
7	Allyl sulfide (1-Propene, 3,3'-thiobis-)	1145	1150 ^a	3,14±0,90	3,39±0,78	3,73±1
8	Limonene	1192	1194 ^a	0,94±0,14	1,03±0,20	0,98±0,19
9	Gama-terpinene	1242	1240 ^a	0,38±0,1	0,63±0,19	0,43±0,04

continua...

10	o-cimene	1269	1237 ^a	0,47±0,14	0,53±0,7	0,56±0,06
11	Diallyl sulfone	1281	*	2,69±0,54	2,78±0,64	2,97±0,33
12	Diallyl disulphide	1486	1490 ^d	15,48±2,55	20,67±1,90	23,47±1,19
13	Terpineol-cis-beta.	1559	*	1,22±0,16	0,95±0,05	1,26±0,30
14	1-Terpinen-4-ol (4-terpineol)	1612	1606 ^b	1,65±0,19	2,15±0,49	1,85±0,35
15	Cis-beta-Terpineol	1473	*	0,96±0,07	0,69±0,02	0,89±0,13
16	1-methylsulfanyl-1-propene	1024	*	0,19±0,03	0,32±0,03	0,24±0,13
	Total			44,74±4,39	50,71±5,64	54,68±6,56
	Aldeídos					
17	Caproaldehyde (Hexanal)	1088	1080 ^a	3,94±4,13	4,31±1,19	5,65±4,19
18	Heptanal	1188	1186 ^a	0,19±0,24	0,37±0,51	0,39±0,11
19	Nonanal	1398	1398 ^a	0,80±0,19	1,32±0,25	1,11±0,28
20	Benzoic aldehyde (Benzaldehyde)	1536	1528 ^a	8,49±5,59	3,66±2,81	2,63±1,24
21	Benzeneacetaldehyde (Phenylacetaldehyde)	1660	1669 ^a	11,78±10,44	12,2±6,24	15,22±12,94
	Total			25,20±3,61	21,86±4,66	25,01±6,06
	Cetonas					
22	2-pentanone	1019	980 ^a	0,56±0,12	0,39±0,15	0,46±0,17
23	2,3-butanodione (diacetyl)	1021	986 ^a	0,31±0,14	0,73±0,34	0,95±0,48
24	2-heptanone	1186	1185 ^a	0,87±0,24	0,41±0,25	0,43±0,11
25	Acetoin (3-hidroxi-2-butanone)	1294	1289 ^a	2,52±1,09	3,05±2,03	5±3,62
26	2-Nonanone	1394	1394 ^a	0,97±0,61	0,2±0,12	0,11±0,04
27	2-Cyclopenten-1-one, 2,3-dimethyl-	1553	*	0,69±0,14	0,71±0,08	*
	Total			5,92±0,78	5,49±1,07	6,95±1,91
	Álcoois					
28	Isopentyl alcohol (3-Methyl-butanol)	1215	1215 ^a	2,59±1,91	0,64±0,22	0,85±0,09
29	Amyl alcohol (1-Pentanol)	1259	1256 ^a	0,71±0,33	1,17±0,05	1,02±0,20
30	Hexanol	1361	1354 ^a	1,04±0,45	1,42±0,37	1,06±0,54
31	1-Octen-3-ol	1459	1456 ^a	0,68±0,28	0,88±0,27	0,7±0,19

continua...

32	1-octanol	1567	1561 ^a	0,28±0,07	0,22±0,05	0,2±0,09
33	p-Guaiacol	1880	1882 ^c	2,78±0,64	2,58±0,27	2,76±0,59
34	Benzeneethanol (phenyl ethyl alcohol)	1930	*	5,82±1,74	6,51±5,19	1,72±0,93
35	1,15-Pentadecanediol	1976	*	1,13±0,26	1,14±0,10	1,41±0,74
Total				15,03±1,82	14,56±2,02	9,73±2,63
Esters						
36	Ethyl iso-pentanoate	1078	1024 ^a	1,27±0,50	0,95±0,53	0,85±0,37
37	Ethyl 2-methylbutanoate	1065	*	0,40±0,14	0,24±0,12	0,19±0,09
Total				1,67±0,61	1,19±0,49	1,04±0,46
Eters						
38	Caprylic ether	1751	*	0,19±0,17	0,37±0,10	0,3±0,17
39	Diethylene glycol ethyl ether	1635	*	0,82±0,17	0,75±0,10	0,67±0,09
Total				1,01±0,45	1,12±0,27	0,96±0,28
Acidos						
40	Isobutyric acid (2-methylpropanoic acid)	1586	*	1,06±0,23	0,75±0,66	0,78±0,50
41	Isovaleric acid (3-methylbutanoic acid)	1688	1670 ^b	4,99±2,19	4,31±3,19	0,83±0,56
Total				6,05±2,76	5,05±2,53	1,61±0,04

Os valores apresentados representam médias \pm desvio padrão de duas replicas e expressam os percentuais referentes ao total de área identificada para cada tratamento. T0 (sem inoculação de culturas), T1 (inoculado com culturas nativas), T2 (inoculado com culturas comerciais). IRE, representa o índice de retenção experimental calculado pela equação de Van den Dool e Kratz. IRL, representa o índice de retenção encontrado na literatura por estudos que usaram colunas com mesma fase estacionária. ^a, Bianchi et al (2007), ^b, Viegas & Bassoli (2007), ^c, Ferrão (2012), ^d, Yu, Wu, & Liou, (1989).

Os compostos classificados como aldeídos, são originados a partir da ação de enzimas endógenas presentes na carne ou pela ação de lipases microbianas a partir de ácidos graxos insaturados e são compostos comumente presentes em embutidos fermentados (Di Cagno et al., 2008; Olivares, Navarro, & Flores, 2009). Dentre os aldeídos encontrados no presente estudo, podemos destacar o fenilacetaldéido encontrado como aldeído majoritário, sua origem é atribuída à degradação do aminoácido aromático fenilalanina pela ação de perfil enzimático microbiano (Montel et al., 1998; Tabanelli et al., 2012). Montel et al. (1998)

estudando o papel das bactérias no desenvolvimento do *flavor* além de atribuir a este aldeído um *flavor* descrito como notas florais, sugere que o *S. xylosus* seja o micro-organismo responsável pela formação do fenilacetaldeído, porém nesta pesquisa não foi verificada diferença entre os tratamentos.

O hexanal, produto da degradação do ácido linoleico, expressa uma ampla gama de odores, como o de folhas verdes (Sun, Zhao, Zhao, Zhao, & Yang, 2010) e é geralmente considerado como um bom indicador do nível de oxidação em produtos cárneos (Di Cagno et al., 2008). Observando os dados de TBARS e o percentual de área do composto hexanal, nota-se que os dados encontrados para TBARS não diferem ($p > 0,05$) entre os tratamentos assim como o percentual de área encontrado para o composto. O hexanal é um composto comum em embutidos fermentados com a aplicação de diversas culturas iniciadoras. Marco, Navarro e Flores (2004) utilizaram em seu estudo *Lactobacillus sakei*, *Pediococcus pentosaceus*, *S. xylosus* e *S. carnosus*, verificando a presença do composto. Stahnke et al. (2002) também verificou a presença do mesmo composto utilizando *L. curvatus* e *S. carnosus*. Todavia assim como outros aldeídos em concentrações elevadas fornecem aroma e sabor de ranço, que é indesejado em alimentos.

Quanto ao grupo de cetonas identificadas neste estudo, a 2-pentanona com aromas frutais e de acetona, a 2-heptanona com aroma frutal e de queijo e a 2-nonanona com aroma frutal e azedo, possuem sua origem na beta-oxidação de ácidos graxos saturados e estão associadas à presença de *S. xylosus* (Stahnke, 1994; Di Cagno et al., 2008), porém neste estudo analisando os percentuais para os compostos identificados como cetonas apenas a 2-nonanona difere ocupando maior percentual de área no tratamento T0.

Deste mesmo grupo a acetoína (3-hidroxi-2-butanona) com aroma amanteigado, proveniente do catabolismo do piruvato e a 2,3-butanodiona (diacetil) com aroma de queijo foram encontradas também por Stahnke (1994) onde o autor sugere a origem também relacionada à presença de *S. xylosus*.

Os ésteres, por apresentarem baixos valores de *threshold*, determinam uma pronunciada importância para o aroma final de salames (Stahnke, 1994; Meynier et al. 1999; Olivares et al. 2009), adicionando notas frutais e mascarando o aroma de ranço no produto (Stahnke, 1994). De acordo com Meynier et al. (1999) e Stahnke,

(1999) a formação de ésteres segue uma cadeia complexa de reações envolvendo desde álcoois e aldeídos, que por sua vez é oxidado a ácido, e posteriormente esterificado, Montel, Reitz, Talon, Berdagued & Rousset-akrim, (1996), sugerem que esta esterificação é causada pela atividade de bactérias da família *Staphylococcaceae*, todavia neste estudo quando observados os percentuais representativos encontrados para ésteres não é verificada diferença entre os tratamentos.

Os álcoois são frutos da decomposição oxidativa de lipídeos. Dentre os encontrados neste estudo, o benzenoetanol e o p-guaiacol, são os mais abundantes. Porém no tratamento T2 nota-se percentual de área relativamente inferior aos demais tratamentos, apontando diferenças nas rotas metabólicas entre as culturas utilizadas. Os álcoois podem ser possíveis precursores para outros compostos com importância odorífera (Maynier et al. 1999; Stahnke, 1999).

Quanto aos ácidos identificados, o tratamento T2 apresentou dados menores quanto ao percentual de área ocupada. Os dois compostos ácidos identificados foram o ácido isobutírico e o ácido 3-metilbutanoico, este por sua vez, de acordo com Summo et al. (2010) pode derivar tanto de atividade microbiana (catabolismo de aminoácidos) quanto da oxidação dos aldeídos correspondentes.

Quanto à presença de éteres, os dois compostos identificados (éter caprílico e éter etil dietileno glicol) apresentam os menores valores de unidades de áreas ocupadas nas amostras analisadas, para todos os tratamentos, não diferindo entre si. Mateo e Zumalacárregui (1996) consideram estes como possíveis contaminantes.

A percepção de aroma em produtos cárneos não depende apenas dos limiares de concentração e de odor de compostos voláteis, mas também de suas interações com outros componentes da matriz alimentícia e entre os compostos voláteis (Adhikari, Hein, Elmore, Heymann, & Willott, 2006).

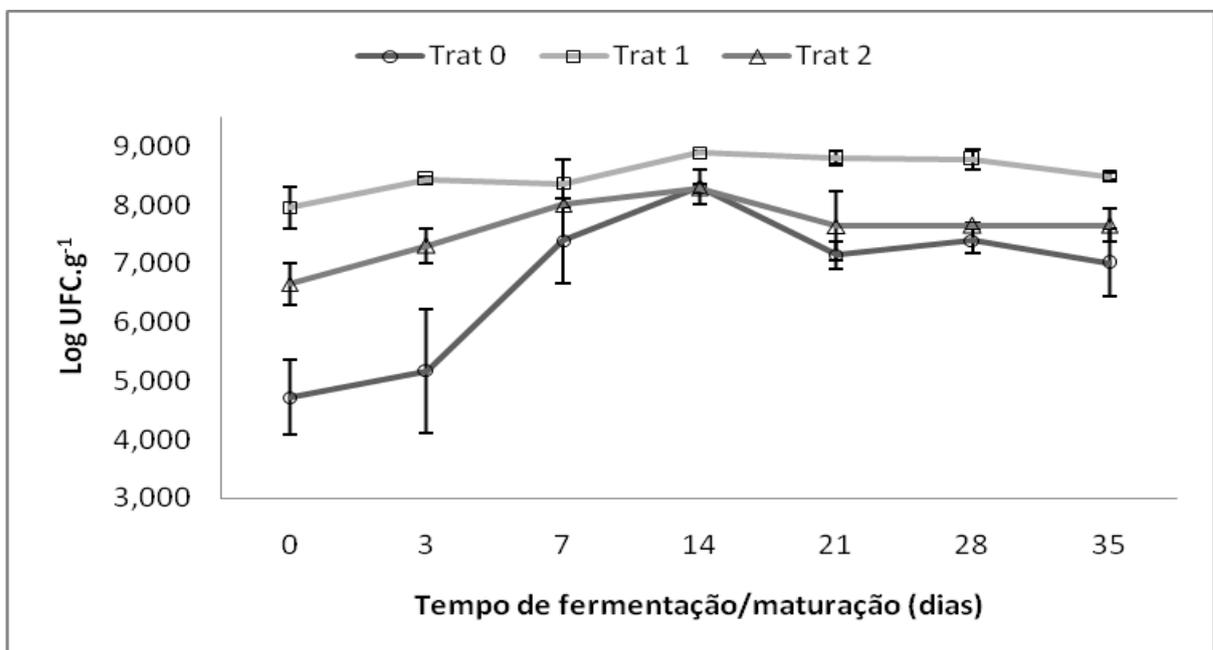
3.3 Monitoramento das culturas iniciadoras

3.3.1 Contagem de bactérias lácticas (BAL)

A Figura 10 ilustra o comportamento das contagens de BAL, as quais diferiram significativamente (Apêndice D), entre os tratamentos, no tempo inicial de

fermentação/maturação ($p < 0,05$). A contagem de BAL para o tratamento T0 neste estudo ($4,72 \log \text{UFC.g}^{-1}$) está próxima àquela sugerida por Drosinos, Paramithiotis, Kolovos, Tsikouras & Metaxopoulos (2007), onde os autores observaram a contagem de BAL de $4,5 \log \text{UFC.g}^{-1}$ em embutidos com fermentação espontânea, no início da fermentação, assim como estudos de Danilovic et al. (2011) que registram contagens iniciais de $4 \log \text{UFC.g}^{-1}$. No 7º dia de fermentação/maturação no tratamento T0 observou-se um crescimento significativo de BAL igualando-se ($p > 0,05$) aos demais tratamentos do estudo e comportando-se assim até o final da maturação. Uma vez superior ($p < 0,05$) a contagem de BAL no tratamento T1 no início da fermentação/maturação, mostra a capacidade de sobrevivência de *Lactobacillus plantarum* AJ2 no embutido, bem como sua capacidade de acidificação como fator tecnológico positivo, resultando a consequente queda de pH mais acentuada e a maior acidificação nos primeiros dias de fermentação/maturação do tratamento, resultados estes que corroboram com os resultados reportados por Sawitzki et al. (2008).

Figura 10 - Contagens de BAL durante período de fermentação/maturação do embutido.

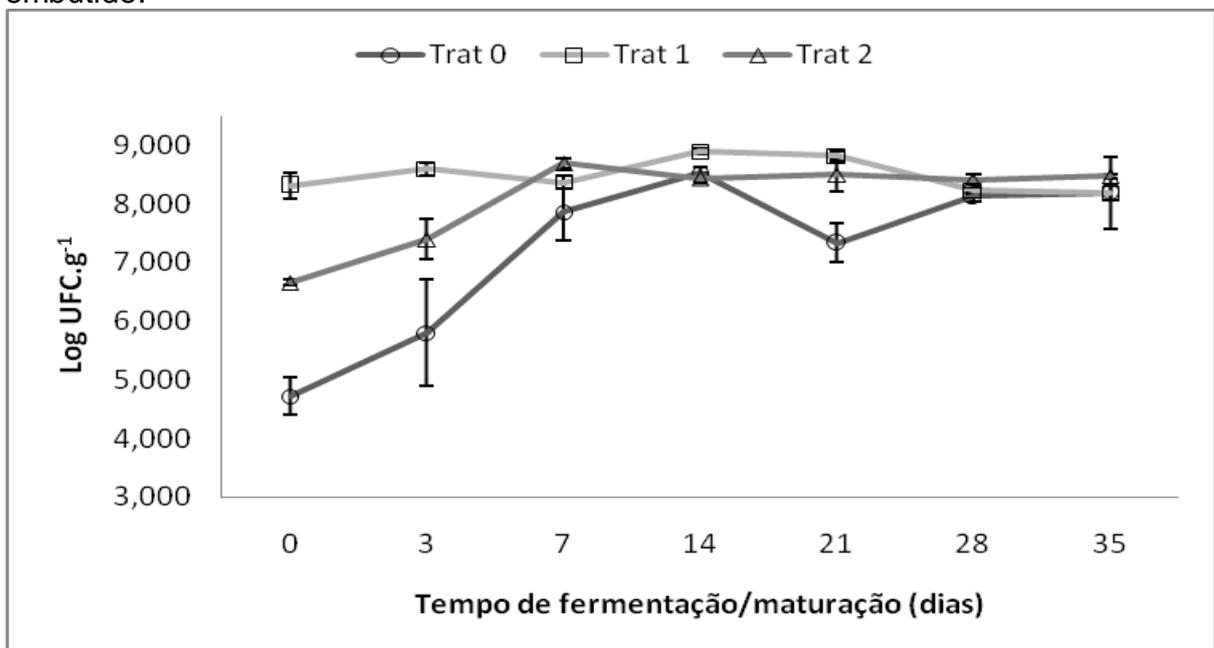


Os valores apresentados representam a média \pm erro-padrão de duas réplicas experimentais. T0 (sem adição de culturas iniciadoras), T1 (adição de culturas iniciadoras nativas), T2 (adição de culturas iniciadoras comerciais).

3.3.2 Contagens de CNS (*Staphylococcus xylosus*)

As contagens aumentaram do tempo 0 para o tempo 35 dias de fermentação/maturação, como ilustrado na Figura 11. Neste estudo, observou-se que *Staphylococcus xylosus* U5, o que já havia sido verificado por Sawitzki et al. (2008), não é inibido em meio acidificado por BAL, Laukova, Simonova e Stropfova (2009) e Fiorentini et al. (2010), reiteram a importância da presença deste micro-organismo em embutidos fermentados. Micro-organismos CNS apresentam atividade nitrato redutase contribuindo para a formação da cor e também, por possuir atividade catalase, importante na decomposição de peróxido de hidrogênio impedindo a formação de hidroperóxidos e, prevenindo a oxidação lipídica, e por possuir atividade lipolítica e proteolítica, atuam na formação de compostos voláteis diretamente relacionados com o *flavor* do embutido. Foi observado no presente estudo, que assim como a contagem de BAL, a contagem de *S. xylosus* no tratamento T1, não apresentou variação ($p>0,05$) (Apêndice D), ao longo do tempo de fermentação/maturação, tal comportamento sugere potencial uso destas culturas (*L. plantarum* AJ2 e *S. xylosus* U5) como iniciadoras.

Figura 11 - Contagens de CNS durante período de fermentação/maturação do embutido.



Os valores apresentados representam a média \pm erro-padrão de duas réplicas experimentais. T0 (sem adição de culturas iniciadoras), T1 (adição de culturas iniciadoras nativas), T2 (adição de culturas iniciadoras comerciais).

3.3.3 Análises microbiológicas

Quanto a segurança microbiológica/sanitária do embutido fermentado, verificada aos 35 dias de fermentação/maturação com as análises de *Salmonella* sp., *Staphylococcus* coagulase positiva e coliformes termotolerantes, os tratamentos apresentaram resultados satisfatórios dentro dos padrões preconizados pela legislação (Brasil, 2001).

3.4 Análise Sensorial

A análise sensorial indicou aceitação por 84% dos provadores do embutido inoculado com as culturas iniciadoras nativas *L. plantarum* AJ2 e *S. xylosus* U5 (T1). Uma vez verificada a aceitação sensorial do embutido adicionado das culturas iniciadoras nativas *L. plantarum* AJ2 e *S. xylosus* U5, acredita-se que as mesmas contribuíram para a aceitação, pois conforme descrito por Terra (1998) e Sawitzki et al. (2007) o ácido láctico produzido pelas BAL é um dos responsáveis pela conferência do *flavor* característico do embutido. A presença do *S. xylosus* U5 também é importante, pois o mesmo possui um perfil enzimático capaz de interferir positivamente na formação da cor desejada em embutidos, bem como na formação do *flavor* pela ação de enzimas proteolíticas e lipolíticas além de impedir a formação de alguns compostos indesejados por produzir a enzima catalase (Fiorentini et al. 2010).

Ainda sob a ótica da aceitação, a associação de carnes suína e de frango aliada à inoculação de culturas iniciadoras nativas (T1), demonstrou potencial aceitação do embutido (84%), reforçando a possibilidade do uso de carne de frango na elaboração de embutido fermentado.

Em relação à intenção de compra do produto, dos 75 provadores quando indagados, 11% responderam que comprariam frequentemente, 29% comprariam muito frequentemente e 19% comprariam sempre o produto (T1) inoculado com as culturas iniciadoras nativas *L. plantarum* AJ2 e *S. xylosus* U5.

4 Conclusões

- As culturas iniciadoras nativas *Lactobacillus plantarum* AJ2 e *Staphylococcus xylosus* U5 mantiveram-se viáveis no embutido durante todo o período de fermentação/maturação.

- Quanto à capacidade de acidificação do meio, as culturas nativas demonstraram maior potencial de acidificação em relação aos demais tratamentos.

- Na formação de compostos voláteis o perfil foi muito similar nos diferentes tratamentos, diferindo apenas pelo percentual relativamente inferior no tratamento T2 com relação à presença de ácidos e alcoóis. Uma vez que, a ação de enzimas microbianas, das culturas nativas *Lactobacillus plantarum* AJ2 e *Staphylococcus xylosus* U5 para a formação de compostos voláteis era desconhecida, a verificação de um perfil volátil semelhante ao produto com culturas comerciais já consolidadas no mercado, reforça a possibilidade do uso das culturas nativas para obtenção de compostos constituintes do aroma do produto.

- A adição de carne de frango aliada ao uso das culturas nativas foi aceita sensorialmente pelos avaliadores.

- As culturas iniciadoras nativas *Lactobacillus plantarum* AJ2 e *Staphylococcus xylosus* U5 contribuíram positivamente para as características tecnológicas desejadas no embutido, demonstrando possibilidade de aplicação.

Agradecimentos

CAPES, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), EMBRAPA SUÍNOS e AVES e Instituto Federal Catrinense Campus-Concórdia.

5 Referências

- Adhikari, K., Hein, K. A., Elmore, J. R., Heymann, H., & Willott, A. M. (2006). Flavor threshold as affected by interaction among three dairy-related flavor compounds. *Journal of Sensory Studies*, 21, 626–643.
- Antoni, I. de. (2005). Influência dos micro-organismos *Staphylococcus xylosus*, *Lactobacillus plantarum* e *Staphylococcus carnosus* no perfil aromático de salames de peru. (Tese de Doutorado). Campinas: Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos.
- A.O.A.C. - Official methods of analysis (17th ed.) (2000). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
- APHA - American public health association. (1992). Compendium of methods for microbiological examination of food. (3th ed). Washington: APHA.
- ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. (1998). NBR 14141. Escalas utilizadas em análise sensorial de alimentos e bebidas.
- Bacus, J. (1984). Update: Meat fermentation. *Food Technology*, 38, 59–63.
- Berdagué, J. L., Monteil, P., Montel, M. C. & Talon, R. (1993). Effects of starter cultures on the formation of flavour compounds in dry sausage. *Meat Science*, 35 275-287.
- Bianchi, F., Careri, M., Mangia, A., Musci, M. (2007). Retention índices in the analysis of food aroma volatile compounds in the temperature-programmed gás chromatography: Database creation and evaluation of precision and roubustness. *J. Sep. Sci.*, 30, 563-572.
- Brasil. (1998). Portaria nº 1004 de 11 de dezembro de 1998. Brasília: Diário oficial da União.
- Brasil. (2000). Instrução Normativa Nº 22, de 31 julho de 2000. Brasília: Ministério da Agricultura.
- Brasil. (2001). Resolução de Colegiado, Nº 12 de 02 de janeiro de 2001. Brasília: Agencia Nacional de Vigilância Sanitária.
- Brasil. (2003). Instrução Normativa Nº 62, de 26 de agosto de 2003. Brasília: Diário Oficial da União.

- Brasil. (2013). Projeções do Agronegócio: Brasil 2012/2013 a 2022/2023. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.
- Cammack, R., Joannou, C. L., Cui, X., Martinez, C. T., Maraj, S. R., & Hughes, M. N. (1999). Nitrite and nitrosyl compounds in food preservation. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1411, 475-488.
- Campos, R. M. L., Hierro, E., Ordoñez, J. A., Bertol, T. M., Terra, N. N., & Hoz, L. (2007). Fatty acid and volatile compounds from salami manufactured with yerba mate (*Ilex paraguariensis*) extract and pork back fat and meat from pigs fed on diets with partial replacement of maize with rice bran. *Food Chemistry*, 103, 1159–1167.
- Carioni, F. O., Porto, A. C. S., Padilha, F. C. F., & Sant'anna, E. S. (2001). Uso de culturas iniciadoras para a elaboração de um embutido à base de carne de pato (*Cairina moschata*). *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 21, 334-338.
- Cavenaghi, A. D. (2005). *Elaboração de embutidos fermentados cozidos com carne de coxa de frango*. (Tese de Doutorado). Campinas: Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos.
- Danilović, B., Joković, N., Petrović, L., Veljović, K., Tolinački, M., & Savić, D. (2011). The characterisation of lactic acid bacteria during the fermentation of an artisan Serbian sausage (Petrovská Klobása). *Meat Science*, 88, 668–674.
- Di Cagno, R., Lopez, C. C., Tofalo, R., Gallo, G., De Angelis, M., Paparella, A., Hammes, W. P., & Gobbetti, M. (2008). Comparison of the compositional, microbiological, biochemical and volatile profile characteristics of three Italian PDO fermented sausages. *Meat Science*, 79, 224–235.
- Drosinos, E. H., Paramithiotis, S., Kolovos, G., Tsikouras, I., & Metaxopoulos, I. (2007). Phenotypic and technological diversity of lactic acid bacteria and staphylococci isolated from traditionally fermented sausages in Southern Greece. *Food Microbiology*, 24, 260-270.
- Essid, I., Ismail, H. B., Ahmed, S. B. H., Ghedamsi, R., & Hassouna, M. (2007). Characterization and technological properties of *Staphylococcus xylosus* strains isolated from a Tunisian traditional salted meat. *Meat Science*, 77, 204-212.

- Fernández, M., Ordóñez, J. A., Bruna, J. M., Herranz, B., & de La Hoz, L. (2000). Accelerated ripening of dry fermented sausages. *Trends in Food Science & Technology*, 11, 201-209.
- Ferrão, T. dos S. (2012). *Compostos voláteis e parâmetros de qualidade de diferentes genótipos de frutos de Butia Odorata*. (Dissertação de Mestrado). Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.
- Fiorentini, A. M., Sawitzki, M. C., Bertol, T. M., Brod, F. C. A., Pelisser, M. R., Arisi, A. C. M. & Sant'anna, E. S. (2009). Phenotypic and Molecular Characterization of *Staphylococcus xylosus*: Technological Potential for Use in Fermented Sausage. *Brazilian archives of biology and technology*, 52, 737-746.
- Fiorentini, A. M., Sawitzki, M. C., Bertol, T. M., Cunha Júnior, A., & Sant'anna, E. S. (2010). Influence of a native strain of *Staphylococcus xylosus* on the microbiological, physicochemical and sensorial characteristics on Milano salami type. *Brazilian archives of biology and technology*, 53, 961-974.
- Fiorentini, A. M., Sawitzki, M. C., Bertol, T.M. & Sant'ana, E.S. (2009) Viability of *Staphylococcus xylosus* isolated from artisanal sausages for application as starters culturas in meat products. *Brazilian Journal of Microbiology*, 40, 129-133.
- Garcia, F. T., Gagleazzi, U. A. & Sobral, P. J. A. (2000). Variação das propriedades físicas e químicas do salame tipo italiano durante secagem e fermentação. *Brazilian Journal of Food Technology*, 3,151-158.
- Gandemer, G. (2002). Lipids in muscles and adipose tissues, changes during processing and sensory properties of meat products. *Meat Science*, 62, 309-321.
- Hammes, W. P. & Hertel, C. (1998) New developments in meat starter cultures. *Meat Science*, v. 49, p.125-138.
- Honikel, K. O. (1998). Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. *Meat science*, 49, 447-457.
- Jay, M. J. *Microbiologia de alimentos*. (2005). (6ª ed). Porto Alegre: Artmed, 711p.

- Latorre-Moratalla, M. L., Veciana-Nogue, T., Bover-Cid, S., Garriga, M., Aymerich, T., Zanardi, E., ... Vidal-Carou, M. C. (2008). Biogenic amines in traditional fermented sausages produced in selected European countries. *Food Chemistry*, 107, 912–921.
- Laukova, A., Simonova, M., & Stropfova, V. (2010). *Staphylococcus xylosum* S03/1M/1/2, bacteriocin-producing meat starter culture or additive. *Food Control*, 21, 970–973.
- Lima, I. B. (2009). *Elaboração e caracterização de salame de cordeiro santa inês*. (Dissertação de Mestrado). Itapetinga. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Programa de Pós-Graduação de Mestrado em Engenharia de Alimentos.
- Lorenzo, J. M., Montes, R., Purriños, L., & Franco, D. (2012). Effect of pork fat addition on the volatile compounds of foal dry-cured sausage. *Meat Science*, 91, 506–512.
- Lucke, F. K. (1994). Fermented meat products. *Food Research International*, 27, 299-307.
- Marco, A., Navarro, J. L., & Flores, M. (2004). Volatile compounds of dry-fermented sausages as affected by solid-phase microextraction (SPME). *Food Chemistry*, 84, 633–641.
- Marco, A., Navarro, J. L., & Flores, M. (2006). The influence of nitrite and nitrate on microbial, chemical and sensory parameters of slow dry fermented sausage. *Meat Science*, 73, 660–673.
- Mattei, F. J. (2011). *Desenvolvimento e elaboração de embutido suíno fermentado adicionado de carne de frango*. (Monografia). Concórdia: Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia Catarinense.
- Mateo, J., & Zumalacárregui, J. M. (1996). Volatile compounds in chorizo and their changes during ripening. *Meat Science*, 44, 244-273.
- Meynier, A., Novelli, E., Chizzolini, R., Zanardi, E., & Gandemer, G. (1999). Volatile compounds of commercial Milano salami. *Meat Science*, 51, 175-183.
- Montel, M. C., Masson, F., & Talon, R. (1998). Bacterial role in flavour development. *Meat Science*, 49, 111–123.

- Montel, M. C., Reitz, J., Talon, R., Berdagued, J. L., & Rousset-akrim, S. (1996). Biochemical activities of *Micrococcaceae* and their effects on the aromatic profiles and odours of a dry sausage model. *Food Microbiology*, 13, 489-499.
- Moretti, V. M., Madonia, G., Diaferia, C., Mentasti, T., Paleari, M. A., Panseri, S., Pironec, G., & Gandinia, G. (2004). Chemical and microbiological parameters and sensory attributes of a typical Sicilian salami ripened in different conditions. *Meat Science*, 66, 845–854.
- Olivares, A., Navarro, J. L., & Flores, M. (2009). Establishment of the contribution of volatile compounds to the aroma of fermented sausages at different stages of processing and storage. *Food Chemistry*, 115, 1464-1472.
- Olivares, A., Navarro, J. L., & Flores, M. (2011). Effect of fat content on aroma generation during processing of dry fermented sausages. *Meat Science*, 87, 264–273.
- Ordóñez, J. A., Rodríguez, M. I. C., Álvarez, L. F., Sanz, M. L. G., Minguillón, G. D., G. F., Peralez, L. H., & Contecero, M. D. S. (2005). *Tecnología de alimentos*. (2th ed.). Porto Alegre: Artmed.
- Papamanoli, E., Tzanetakis, N., Litopoulou-Tzanetaki, E., & Kotzekidou, P. (2003). Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry-fermented sausage in respect of their technological and probiotic properties. *Meat Science*, 65, 859–867.
- Raharjo, S., Sofos, J. N., & Schmidt, G. R. (1992). Improved speed, specificity and limit of determination of an aqueous acid extraction thiobarbituric acid-C18 method for measuring lipid peroxidation in beef. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 40, 2182-2185.
- Sawitzki, M. C., Fiorentini, A. M., Bertol, T. M. & Sant'anna, E. S. (2009) *Lactobacillus plantarum* strains isolated from naturally fermented sausages and their technological properties for application as starter cultures. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 29, 340-345.
- Sawitzki, M. C., Fiorentini, A. M., Brod, F. C. A., Tagliari, C., Bertol, T. M., Arisi, A. C. M. & Sant'anna, E. S. (2007). Phenotypic characterization and species-specific PCR of promising starter culture strains of *Lactobacillus plantarum* isolated from naturally fermented sausages. *Brazilian Journal of Microbiology*, 38, 547-552.

- Sawitzki, M. C., Fiorentini, A. M., Cunha Junior, A., Bertol, T. M. & Sant'anna, E. S. (2008). *Lactobacillus plantarum* AJ2 isolated from naturally fermented sausage and its effects on the technological properties of Milano-type salami. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 28, 709-717.
- Schmidt, S., & Berger, R. G. (1998). Aroma compounds in fermented sausages of different origins. *Lebensm.-Wiss Technol*, 31, 559-567.
- Stahnke, L. H. (1994). Aroma components from dried sausages fermented with *Staphylococcus xylosum*. *Meat Science*, 38, 39-53.
- Stahnke, L. H. (1999). Volatile produced by *Staphylococcus xylosum* and *Staphylococcus carnosus* during growth in sausage minces. Part I. Collection and identification. *Lebensm.-Wiss. Technol*, 32, 357-364.
- Stahnke, L. H., Holck, A., Jensen, A., Nilsen, A., & Zanardi, E. (2002). Maturity acceleration by *Staphylococcus carnosus* in fermented sausage-relationship between maturity and flavor compounds. *Journal of Food Science*, 67, 1914-1921.
- Summo, C., Caponio, F., Tricarico, F., Pasqualone, A., & Gomes, T. (2010). Evolution of the volatile compounds of ripened sausages as a function of both storage time and composition of packaging atmosphere. *Meat Science*, 86, 839–844.
- Sun, W., Zhao, Q., Zhao, H., Zhao, M., & Yang, B. (2010). Volatile compounds of Cantonese sausage released at different stages of processing and storage. *Food Chemistry*, 121, 319–325.
- Sunesen, L. O., Dorigoni, V., Zanardi, E., & Stahnke, L. (2001) Volatile compounds released during ripening in Italian dried sausage. *Meat Science*, 58, 93-97.
- Tabanelli, G., Coloretti, F., Chiavari, C., Grazia, L., Lanciotti, R., & Gardini, F. (2012) Effects of starter cultures and fermentation climate on the properties of two types of typical Italian dry fermented sausages produced under industrial conditions. *Food Control*, 26, 416-426.
- Talon, R., Leroy, S., & Lebert, I. (2007). Microbial ecosystems of traditional fermented meat products: The importance of indigenous starters. *Meat Science*, 77 55–62.

- Terra, A. B. de M., Fries, L. L. M., Terra, N. N., (2004). *Particularidades na fabricação de salame*. São Paulo: Livraria Varela.
- Viegas, M. C., Bassoli, D, G. (2007). Utilização do índice de retenção linear para caracterização de compostos voláteis em café solúvel utilizando CG-MS e coluna HP-INNOWAX. *Quím. Nova*, 30, 2031-2034.
- Xavier, L.H. (2000). *Modelos univariado e multivariado para análise de medidas repetidas e verificação da acurácia do modelo univariado por meio de simulação*. (Dissertação de Mestrado). Piracicaba: Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.
- Yildiz-Turp. G, & Serdaroglu, M. (2010). Effects of using plum puree on some properties of low fat beef patties. *Meat science*, 86, 896–900.
- Yu, T., Wu, C., & Liou, Y. (1989). Volatile compounds from garlic. *J. Agric. Food Chem.*, 37, 725-730.
- Zanardi, E., Dorigoni, V., Badiani, A., & Chizzolini, R. (2002). Lipid and colour stability of Milano-type sausages: effect of packing conditions. *Meat Science*, 61, 7–14.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com a realização da presente pesquisa conhecimentos pertinentes relacionados à aplicação das culturas iniciadoras nativas *Lactobacillus plantarum* AJ2 e *Staphylococcus xylosus* U5 em embutidos fermentados foram gerados, como:

- Verificação da capacidade de ambos os micro-organismos de se manterem viáveis no embutido, ao longo do período de fermentação/maturação;
- Capacidade de *Lactobacillus plantarum* AJ2 em produzir no embutido uma acidificação mais acentuada durante os primeiros dias de fermentação/maturação;
- Geração de um perfil volátil similar ao gerado pelas culturas comerciais;
- Desempenho tecnologicamente positivo associado à adição de carne de frango, promovendo aceitação sensorial do embutido.

Deste modo, a aplicação das culturas iniciadoras nativas *Lactobacillus plantarum* AJ2 e *Staphylococcus xylosus* U5 em embutidos fermentados apresenta-se viável, todavia seriam importantes mais estudos para complementar os conhecimentos obtidos neste.

Visto que as culturas nativas promovem maior acidificação, que consequentemente influenciará na textura e formação de cor do embutido, seria pertinente acompanhar o comportamento destas variáveis ao longo da fermentação/maturação do embutido, bem como o acompanhamento durante a fermentação/maturação do perfil volátil, poderia auxiliar ainda mais no melhor entendimento da capacidade enzimática das culturas nativas, responsável pela sua autenticidade.

Com relação aos compostos voláteis seria importante também o acompanhamento do perfil volátil de um tratamento com aplicação das culturas iniciadoras nativas *Lactobacillus plantarum* AJ2 e *Staphylococcus xylosus* U5 que não possuísse a associação de carne de frango em sua formulação, na tentativa de observar o impacto da adição de carne de frango nas características de voláteis do embutido.

APÊNDICES

Apêndice A - Fórmula de Van den Dool e Kratz, utilizada para calcular o índice de retenção experimental.

$$IR = 100n + \frac{100(T_x - T_n)}{T_{n+1} - T_n}$$

Onde;

T_n e T_{n+1} são os tempos de retenção dos n-alcenos de referência;

n é o numero de carbonos do n-alceno de referência;

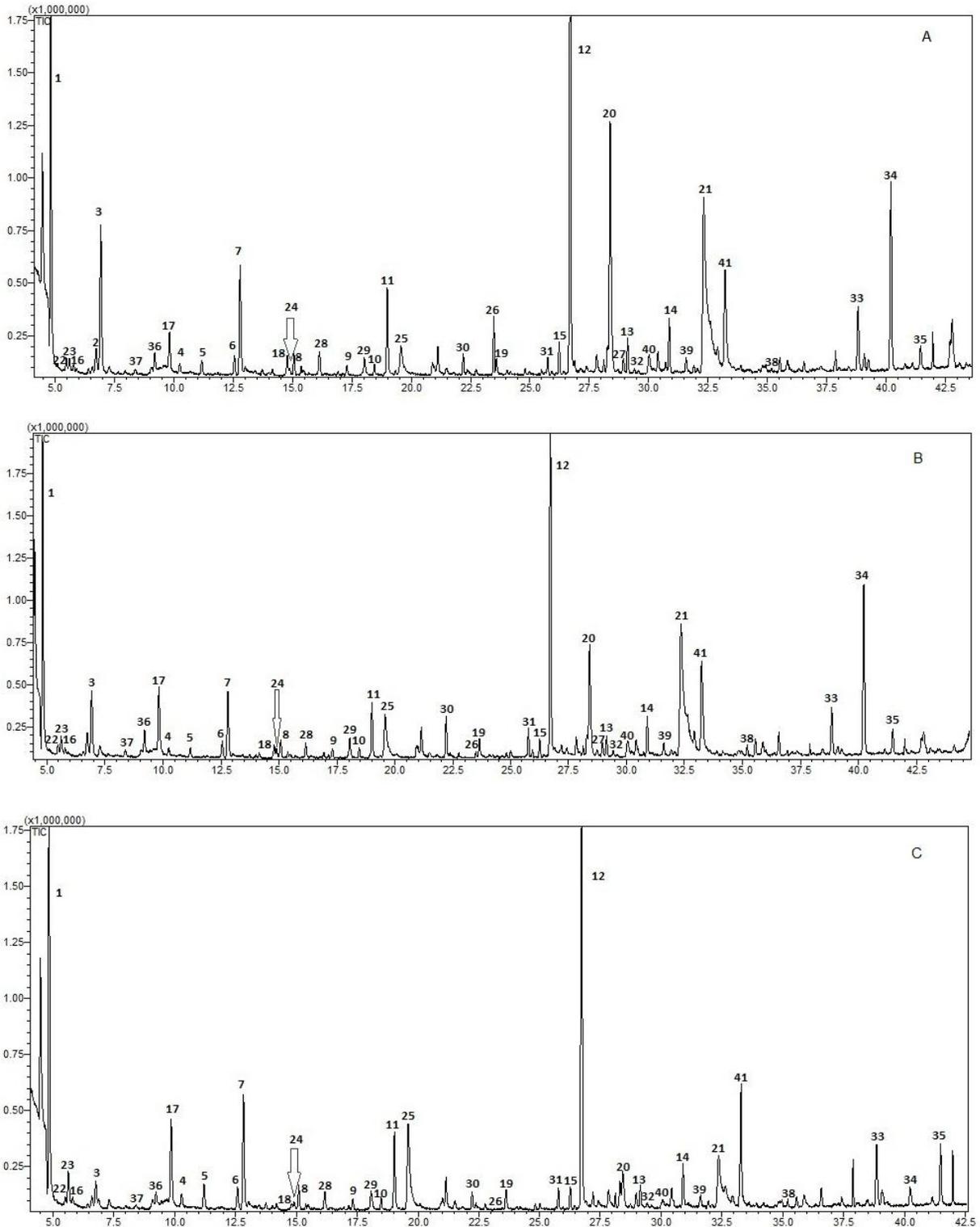
T_x é o tempo de retenção da substância de interesse.

Apêndice B - Variações de pH, acidez, a_w e quebra de peso durante período de fermentação/maturação do embutido

Variável	Tempo de fermentação/maturação embutido (dias)								
	0	3	5	7	14	21	28	35	
pH									
T0	5,87±0,02 ^{BCd}	5,93±0,05 ^{Bca}	5,86±0,01 ^{Bca}	6,02±0,28 ^{Ba}	5,69±0,02 ^{Ca}	6,33±0,11 ^{Aa}	6,47±0,07 ^{Ad}	6,49±0,17 ^{Ad}	
T1	5,87±0,02 ^{Ad}	5,24±0,03 ^{Bb}	4,70±0,00 ^{Cb}	4,81±0,01 ^{Cc}	4,95±0,03 ^{Cb}	5,33±0,05 ^{Bc}	6,07±0,09 ^{Ad}	6,11±0,10 ^{Ad}	
T2	5,93±0,03 ^{BCd}	5,88±0,03 ^{BCa}	5,72±0,19 ^{CDa}	5,65±0,14 ^{Db}	5,67±0,21 ^{Da}	5,82±0,21 ^{BCDb}	6,08±0,16 ^{Bd}	6,34±0,05 ^{Ad}	
Acidez (g/100g)									
T0	0,393±0,012 ^{Cc}	0,436±0,013 ^{Bb}	0,465±0,000 ^{ABb}	0,436±0,045 ^{BCc}	0,452±0,015 ^{Bb}	0,500±0,016 ^{Ac}	0,500±0,015 ^{AB}	0,347±0,014 ^{Cb}	
T1	0,438±0,014 ^{Da}	0,533±0,013 ^{Ca}	0,597±0,031 ^{Ba}	0,673±0,009 ^{Aa}	0,595±0,020 ^{Ba}	0,659±0,022 ^{Aa}	0,641±0,020 ^{AB}	0,510±0,056 ^{CDa}	
T2	0,431±0,013 ^{Cb}	0,492±0,010 ^{Ba}	0,483±0,005 ^{BCb}	0,518±0,018 ^{ABb}	0,484±0,012 ^{Bb}	0,571±0,022 ^{Ab}	0,608±0,072 ^A	0,480±0,005 ^{BCa}	
a_w									
T0	0,964±0,001 ^{Ad}	0,958±0,004 ^{ABd}	0,954±0,001 ^{Bd}	0,953±0,001 ^{BCd}	0,947±0,001 ^{Cd}	0,931±0,002 ^{Dd}	0,905±0,002 ^{Ea}	0,862±0,008 ^{Fb}	
T1	0,965±0,000 ^{Ad}	0,959±0,002 ^{ABd}	0,954±0,000 ^{BCd}	0,953±0,000 ^{CDd}	0,946±0,000 ^{Dd}	0,934±0,005 ^{Ed}	0,897±0,002 ^{Fb}	0,861±0,004 ^{Gb}	
T2	0,964±0,000 ^{Ad}	0,962±0,000 ^{ABd}	0,956±0,001 ^{BCd}	0,953±0,000 ^{Cd}	0,946±0,002 ^{Dd}	0,939±0,001 ^{Ed}	0,906±0,002 ^{Fa}	0,880±0,003 ^{Ga}	
Quebra de peso (g)									
T0	252,50±15,0 ^{Ad}	240,00±12,5 ^{Bd}	236,25±11,3 ^{Cd}	235,00±10,0 ^{Cd}	198,75±11,3 ^{Dd}	175,00±7,50 ^{Ed}	153,75±8,75 ^{Fd}	141,25±8,75 ^{Gd}	
T1	245,00±0,00 ^{Ad}	237,50±2,50 ^{Bd}	231,25±1,25 ^{Cd}	227,50±0,00 ^{Dd}	192,50±0,00 ^{Ed}	171,25±1,25 ^{Fd}	148,75±1,25 ^{Gd}	136,25±3,75 ^{Hd}	
T2	252,50±2,50 ^{Ad}	243,75±1,25 ^{Bd}	237,50±0,00 ^{Cd}	236,25±1,25 ^{Cd}	200,00±0,00 ^{Dd}	180,00±0,00 ^{Ed}	160,00±2,50 ^{Fd}	147,50±2,50 ^{Gd}	

Os valores apresentados representam as médias \pm erro padrão de duas replicas. ^{A-H} subscritos na mesma linha indica diferença significativa entre os tempos de fermentação/maturação para o mesmo tratamento pelo Teste t ($p < 0,05$). ^{a-d} subscritos na mesma coluna indica valores significativamente diferentes entre os tratamentos pelo Teste t ($p < 0,05$). T0 (sem inoculação de culturas), T1 (inoculado com culturas nativas), T2 (inoculado com culturas comerciais).

Apêndice C - Cromatogramas representativos referentes aos compostos identificados em cada tratamento de embutido fermentado.



(A) cromatograma representativo referente ao tratamento T0 (sem culturas iniciadoras), (B) cromatograma representativo referente ao tratamento T1 (com inoculação de culturas nativas), (C) cromatograma representativo referente ao tratamento T2 (inoculado com culturas comerciais).

Apêndice D - Contagens (log UFC. g⁻¹) de bactérias lácticas e nitrato redutoras durante o tempo de fermentação/maturação do embutido fermentado.

Contagens	Tratamentos	Tempo de fermentação/maturação (dias)						
		0	3	7	14	21	28	35
Bactérias lácticas	T0	4,72±0,64 ^{Cc}	5,17±1,06 ^{Cb}	7,39±0,73 ^{Bd}	8,30±0,30 ^{Ad}	7,14±0,24 ^{Bb}	7,39±0,21 ^{ABd}	7,01±0,58 ^{Bd}
	T1	7,95±0,35 ^{Da}	8,43±0,05 ^{Da}	8,37±0,41 ^{Dd}	8,89±0,03 ^{Dd}	8,80±0,12 ^{Da}	8,78±0,18 ^{Dd}	8,49±0,07 ^{Dd}
	T2	6,65±0,35 ^{Db}	7,30±0,30 ^{Da}	8,00±0,00 ^{Dd}	8,28±0,08 ^{Dd}	7,64±0,59 ^{Dab}	7,65±0,05 ^{Dd}	7,65±0,28 ^{Dd}
CNS	T0	4,72±0,32 ^{Dc}	5,80±0,90 ^{Cc}	7,85±0,49 ^{ABd}	8,52±0,10 ^{Ad}	7,33±0,33 ^{Bb}	8,12±0,08 ^{ABd}	8,19±0,62 ^{ABd}
	T1	8,31±0,23 ^{Da}	8,59±0,11 ^{Da}	8,37±0,11 ^{Dd}	8,89±0,05 ^{Dd}	8,81±0,09 ^{Da}	8,22±0,08 ^{Dd}	8,18±0,12 ^{Dd}
	T2	6,66±0,06 ^{Cb}	7,39±0,35 ^{BCb}	8,69±0,09 ^{Ad}	8,43±0,09 ^{ABd}	8,49±0,29 ^{Ab}	8,39±0,11 ^{ABd}	8,47±0,04 ^{Ad}

Os valores apresentados representam as médias ± erro padrão de duas replicas. ^{A-D} subscritos na mesma linha indica diferença significativa entre os tempos de fermentação/maturação para o mesmo tratamento pelo Teste t (p<0,05). ^{a-d} subscritos na mesma coluna indica valores significativamente diferentes entre os tratamentos pelo Teste t (p<0,05). T0 (sem inoculação de culturas), T1 (inoculado com culturas nativas), T2 (inoculado com culturas comerciais).