

Efeito da adição de extrato de cogumelo do sol em linguiça suína e avaliação da estabilidade oxidativa e microbiológica do produto

Effect of sun mushroom extract in pork sausage and evaluation of the oxidative and microbiological stability of the product

Flávia Santi Stefanello^{1*}; Carlos Pasqualin Cavalheiro¹; Fernanda Luísa Ludtke¹; Mariana Santos da Silva²; Leadir Lucy Martins Fries³; Ernesto Hashime Kubota³

Resumo

A prevenção da oxidação lipídica é uma das buscas da indústria cárnea, conseqüentemente, a pesquisa de antioxidantes naturais foi notavelmente aumentada nos últimos anos. Desta forma, o objetivo deste estudo foi determinar o efeito do extrato hidroetanólico de cogumelo do sol (*Agaricus blazei* Murril) sobre a estabilidade oxidativa e microbiológica de linguiça de carne suína durante o armazenamento a 4°C. O extrato foi utilizado nas concentrações de 0 %, 0,5 %, 1,0 % e 2,0 % (v/p) nas linguiças. Foram realizadas as análises de composição centesimal, pH, cor instrumental (L*, a*, b*, C* e h*), TBARS (Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico) e análises microbiológicas. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, em delineamento inteiramente casualizado. Os resultados obtidos na composição centesimal e análises microbiológicas realizadas no dia 0 estão de acordo com o exigido pela legislação brasileira. No 1º dia de armazenamento, o tratamento controle apresentou valor de a* (cor vermelha) maior (p<0,05) do que os demais tratamentos, enquanto que o valor de b* (cor amarela) apresentou aumento (p<0,05) ao longo do período de armazenamento em todos os tratamentos. Ao 21º dia de armazenamento, o valor de TBARS para as linguiças com 2,0 % de extrato foi inferior (0,705±0,01 mg MDA (malonaldeído)/kg de amostra) (p<0,05) ao do controle (1,097±0,11 mg MDA/kg de amostra). O extrato não possuiu efeito sobre a estabilidade microbiológica dos produtos. No entanto, o extrato hidroetanólico de cogumelo do sol foi efetivo sobre a estabilidade oxidativa de linguiça de carne suína quando adicionado na concentração de 2,0 %, estendendo a vida útil até 21 dias de armazenamento a 4°C, sendo viável sua aplicação como uma fonte antioxidante natural.

Palavras-chave: Extrato hidroetanólico, cogumelo, produto cárneo, oxidação lipídica, avaliação microbiológica

Abstract

The prevention of lipid oxidation is one of the meat industry's target and, consequently, the search for natural antioxidants has been increased in last years. Thus, the aim of this study was to determine the effect of hydroethanolic extract from sun mushroom (*Agaricus blazei* Murrill) on the oxidative and microbiological stability of pork meat sausage during storage at 4°C. The extract was added to sausages in 0 %, 0.5 %, 1.0 % and 2.0 % (v/w) concentrations. There was done the proximate composition,

¹ Discentes do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Deptº de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, CCR, Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, Santa Maria, RS. E-mail: flaviass_vet@hotmail.com; cavalheiro.carlos@hotmail.com; felovatuludtke@gmail.com

² Discente do Curso de Graduação em Farmácia, Centro de Ciências da Saúde, UFSM, Santa Maria, Rio Grande do Sul. E-mail: marianasss@live.com

³ Profs. Associados do Deptº de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, CCR, UFSM, Santa Maria, RS. E-mail: lucymicro@yahoo.com.br; ernehk2008@yahoo.com.br

* Autor para correspondência

pH, instrumental color (L^* , a^* , b^* , C^* e h^*), TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances) and microbiological analyzes. Data were subjected to analysis of variance, in randomized completely design. The results from proximate composition and microbiological analyzes at day 0 were according to the Brazilian legislation. At 1st day of storage, control treatment showed higher ($p < 0,05$) a^* value (red) than the other treatments, while b^* value (yellow) has increased ($p < 0,05$) during the storage period in all treatments. At 21st day of storage, TBARS values of sausages with 2.0 % extract addition was lower ($0,705 \pm 0,01$ mg MDA/kg sample) ($p < 0,05$) than the control ($1,097 \pm 0,11$ mg MDA/kg sample). The extract has not shown effect on the microbiological stability of the sausages. Nevertheless, the hydroethanolic extract from sun mushroom was effective on the oxidative stability of pork meat sausage when added in a 2.0 % concentration, improving its shelf-life up to 21 days of storage at 4 °C, and it is possible the use as a natural antioxidant source.

Key words: Hydroethanolic extract, mushroom, meat product, lipid oxidation, microbiological evaluation

Introdução

A oxidação lipídica é uma das principais razões da deterioração de compostos presentes em produtos cárneos, que acarreta na diminuição da qualidade destes produtos (GEORGANTELIS et al., 2007). Este processo é influenciado pela composição de fosfolípidos, a quantidade de ácidos graxos polinsaturados, a presença de íons metálicos, de oxigênio, pigmentos heme, processos mecânicos e da adição de sal durante o processamento (DEVATKAL; NARSAIAH; BORAH, 2010).

A prevenção da oxidação lipídica é uma das buscas da indústria cárnea, já que os processos oxidativos estão associados com alterações irreversíveis que contribuem para o desenvolvimento de características sensoriais indesejáveis (odores e *flavours* ofensivos) através da produção de compostos voláteis resultantes da decomposição lipídica (GEORGANTELIS et al., 2007). Além disso, este tipo de oxidação é capaz de promover a destruição de constituintes essenciais, ocasionando o decréscimo do valor nutricional dos alimentos (VALENZUELA; NIETO, 1996) e a formação de compostos tóxicos durante o processamento de produtos cárneos (DEJONG; LANARI, 2009).

Um método alternativo para reduzir a oxidação lipídica é a inclusão de antioxidantes, os quais não devem afetar a qualidade sensorial do produto e devem ser eficazes a baixas concentrações (FRANCO et al., 2012). Entretanto, por muitos

anos, foi utilizado em produtos cárneos, antioxidantes sintéticos, como butil-hidroxianisol (BHA) e butil-hidroxitolueno (BHT), para evitar ou reduzir a deterioração sensorial destes produtos. No entanto, as preocupações sobre a sua segurança e a preferência do consumidor por alimentos mais saudáveis resultou em uma alta demanda por aditivo “natural” que podem estender a vida útil de produtos cárneos processados (DEJONG; LANARI, 2009), como a linguiça de carne suína.

Consequentemente, a busca por antioxidantes naturais, especialmente de origem vegetal, foi notavelmente aumentada nos últimos anos. Compostos obtidos a partir de fontes naturais, tais como grãos, sementes oleaginosas, especiarias, frutas e vegetais têm sido investigados (YANISHLIEVA; MARINOVA; POKORNY, 2006), bem como de cogumelos comestíveis (WONG; CHYE, 2009; VAZ et al., 2011b). Demonstrou-se que várias plantas ou seus extratos fenólicos, como hortelã (BISWAS; CHATLI; SAHOO, 2012) casca de batata (KANATT et al., 2005), chá de catequinas (RABABAH et al., 2004), canola (VUORELA et al., 2005), semente de uva (KULKARNI et al., 2011) são eficientes antioxidantes lipídicos naturais para produtos cárneos.

Em contraste com a sua propriedade antioxidante *in vitro*, alguns estudos sugerem que compostos polifenólicos têm propriedade potencial pró-oxidante (MURZAKHMETORA et al., 2008). Entretanto, a margem entre a quantidade

funcionalmente necessária para um desempenho antioxidante ótimo e a dose pró-oxidante pode ser pequena e tal fato deve ser considerado quando houver o enriquecimento de alimentos por esses ingredientes (RIETJENS et al., 2002).

Com a tendência para o consumo de “produtos naturais”, antimicrobianos alternativos aos químicos também precisam ser identificados para a adição em produtos alimentares a fim de reduzir e/ou eliminar patógenos contaminantes de alimentos (SMITH-PALMER; STEWART; FYFE, 2001; HIGGINBOTHAM et al., 2014). Carnes e produtos cárneos são altamente propensos a contaminação microbiana, uma vez que são ricos em nutrientes essenciais. Isto é ainda mais acelerado por alguns fatores intrínsecos, incluindo pH e atividade de água da carne (DAVE; GHALY, 2011). Uma vasta gama de antimicrobianos naturais é estudada como alternativa para prolongar a vida útil de produtos cárneos, através da inibição do crescimento microbiano (SIMITZIS et al., 2008; KIM; CHO; HAN, 2013; BUKVIČKI et al., 2014).

O cogumelo do sol (*Agaricus blazei* Murril) é um basidiomiceto popularmente conhecido no Brasil e amplamente utilizado hoje em vários países, principalmente nos orientais, tanto como cogumelo comestível, considerado um alimento funcional, bem como em terapia natural, devido a importantes propriedades terapêuticas, como atividade antitumoral (NIU et al., 2009), ação antimutagênica (GUTERREZ et al., 2004), atividade antiviral (SORIMACHI et al., 2001), ação anti-inflamatória (PADILHA et al., 2009), atividade anti-hipertensiva (SINGI et al., 2006) e redução nos níveis séricos de glicose, colesterol total, triacilgliceróis e no fator de risco de problemas cardiovasculares, com concomitante aumento no HDL (KIM et al., 2005).

Vários gêneros de cogumelos comestíveis, inclusive o cogumelo do sol, são comprovadamente antioxidantes muito eficazes *in vitro* (HUANG; MAU, 2006; OKE; ASLIM, 2011). Os antioxidantes

encontrados em cogumelos são principalmente compostos fenólicos, tendo sido quantificados em diferentes espécies encontradas em todo o mundo (VAZ et al., 2011a). Alguns compostos fenólicos encontrados em plantas, tais como os de sálvia, alecrim, tomilho, lúpulo, coentro, cravo e manjerição são conhecidos por possuírem efeitos antimicrobianos contra patógenos alimentares (AHN; GRÜN; MUSTAPHA, 2007). Entretanto, a avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana do cogumelo do sol aplicada em produtos cárneos não é reconhecida, fornecendo, dentre outras, uma importante razão para incorporar este cogumelo em linguiça de carne suína.

Dessa maneira, objetivou-se determinar o efeito do extrato hidroetanólico de cogumelo do sol (*Agaricus blazei* Murril) sobre a estabilidade oxidativa e microbiológica de linguiça de carne suína, a fim de verificar a aplicabilidade e a manutenção destas características durante o armazenamento refrigerado a 4°C.

Material e Métodos

Elaboração do extrato hidroetanólico

As amostras de cogumelo do sol utilizadas neste estudo foram fornecidas por um estabelecimento comercial, localizado na cidade de Santa Maria (RS) sob a forma de basidiocarpos imaturos previamente secos. As amostras foram moídas em moinho analítico refrigerado (4°C) (Quimis, modelo Q 298A21, Diadema, Brasil) e acondicionadas em recipientes fechados, ao abrigo da luz e em freezer (-12°C) até o momento de serem utilizadas.

Os extratos de cogumelo foram preparados a partir do pó previamente moído, pesado (6 g) em um béquer e adicionado de álcool de cereais 80 % (60 mL) na proporção 1:10 (p/v). Em seguida esta mistura foi levada ao banho ultratermostatizado (Solab, modelo SL-152/10, Piracicaba, Brasil) e submetida agitação constante utilizando agitador (Marconi MA-039, Piracicaba, Brasil) com

temperatura de 70°C durante 60 minutos de extração. Após os extratos foram filtrados em papel filtro e acondicionados em frascos âmbar e armazenados em freezer (-12°C) até o momento da aplicação.

Elaboração das linguiças

Para elaboração das linguiças de carne suína levou-se em consideração os requisitos descritos pela legislação (BRASIL, 2000) e procedimentos descritos por Terra (1998). A formulação base atendeu a 74,90 % de carne suína, 18,40 % de toucinho, 2,90 % de água/gelo, 1,90 % de sal comum, 0,23 % de cura rápida (Bremil Indústria de Produtos Alimentícios Ltda, Arroio do Meio, Brasil), 0,23 % de fixador de cor (Bremil Indústria de Produtos Alimentícios Ltda, Arroio do Meio, Brasil), 0,05 % de pimenta branca moída, 0,20 % de alho moído, 0,19 % de açúcar, 0,05 % de glutamato monossódico e 0,95 % de condimento para linguiça frescal (Bremil Indústria de Produtos Alimentícios Ltda, Arroio do Meio, Brasil).

Inicialmente a carne suína e o toucinho foram moídos em moedor (Jamar PJ22, Jamar Ltda, São Paulo, Brasil). Na etapa seguinte a matéria-prima foi levada para a misturadeira (Jamar MJI 35), adicionada os ingredientes e misturados até a obtenção da liga. Em seguida, a massa foi dividida em quatro lotes de 5 kg, os quais foram adicionados das concentrações pré-definidas de extrato de cogumelo do sol e a massa homogeneizada manualmente, originando os quatro tratamentos: tratamento 1 (0 % EC) – sem adição de extrato de cogumelo do sol; tratamento 2 (0,5 % EC) – linguiça de carne suína adicionada de 0,5 % de extrato de cogumelo do sol; tratamento 3 (1,0 % EC) – linguiça suína adicionada de 1 % de extrato de cogumelo do sol; tratamento 4 (2,0 % EC) – linguiça suína adicionada de 2 % de extrato de cogumelo do sol.

Após a mistura as massas foram embutidas em tripa suína que passaram por lavagem para remoção do sal e imersão em ácido láctico a 1 % por 30 minutos para hidratação. Para armazenamento

as linguiças foram acondicionadas em bandejas de poliestireno, cobertas com filme plástico, identificadas e imediatamente levadas a estufa D.B.O (ELETROLAB, Modelo EL 101, São Paulo, Brasil) e conservadas à temperatura de 4°C.

Análises físico-químicas

Para a determinação da composição centesimal as amostras de linguiças foram trituradas em multiprocessador até formação de uma pasta homogênea. Foram realizadas análises de umidade em estufa a 105°C, cinzas à 550°C e proteínas pelo método de Kjeldhal segundo metodologia descrita pela *Association Of Official Analytical Chemists*, AOAC (2005). A gordura foi realizada segundo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008), pelo método do butirômetro.

A medida do pH foi realizada nos 0°, 7°, 14°, 21° e 28° dias de fabricação do produto. Homogeneizaram-se dez gramas de amostra com água destilada (1:10 p/v) no liquidificador. No homogeneizado foi determinado o pH (DIGIMED, Modelo DM-23DC-pHmetro, São Paulo, Brasil), sendo a leitura realizada em triplicata (TERRA; BRUM, 1988).

A determinação da cor foi avaliada pelo sistema CIELab, usando aparelho Chroma Meter CR-300 (MINOLTA, Osaka, Japão) nos dias 0°, 7°, 14°, 21° e 28° de armazenamento. A massa foi retirada da tripa, homogeneizada e em seguida distribuída em placas de petri, quando foi obtido o valor médio de cinco leituras para cada tratamento, de forma que a cada leitura a massa foi misturada e homogeneizada novamente (VIERA, 2012). Os resultados foram expressos como L* (representa a porcentagem de luminosidade), a* (onde: -a* representa direção ao verde e +a* direção ao vermelho), b* (onde: -b* representa direção ao azul e +b* direção ao amarelo), C* (índice de saturação) e h* (ângulo de tonalidade).

A avaliação da oxidação lipídica das linguiças de carne suína foi conduzida pelo teste das Substâncias

Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) segundo Raharjo, Sofos e Schmidt (1992), adaptado por Pereira (2009), onde pesou-se 10 g de amostra previamente moída e homogeneizada em saqueta plástica, adicionou-se 40 mL de ácido tricloroacético (TCA) 5 % e 1 mL do antioxidante sintético butilhidroxitolueno (BHT) 0,15 %. Homogeneizou-se por um minuto em Stomacher Elétrico Modelo BOIT-STO1 (LABOR, São Paulo, Brasil).

Em seguida, foi realizada a filtragem do conteúdo homogeneizado com auxílio de papel filtro em balão volumétrico de 50 mL, completando o volume deste recipiente com solução de ácido tricloroacético 5 %. Deste balão, retirou-se uma alíquota de 5 mL e transferiu-se para tubo de ensaio com tampa, onde foi adicionado 5 mL de ácido tiobarbitúrico 0,08M em ácido acético 50 %. Os tubos foram aquecidos em banho-maria fervente por 40 minutos e após resfriarem, a absorbância foi lida em espectrofotômetro Femto 600 (Femto, São Paulo, Brasil) a 531 nm, utilizando-se como branco, a mistura de todos os reagentes descritos anteriormente, exceto a amostra.

Os valores de TBARS foram determinados em quintuplicata para cada amostra após 0°, 7°, 14°, 21° e 28° dias de armazenamento e os resultados foram calculados a partir de uma curva padrão de 1,1,3,3 – tetraetoxipropano (TEP) (T9889, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) e expressos em miligramas de malonaldeído por kg de amostra (mg MDA/kg amostra).

Análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas nos dias 0°, 7°, 14°, 21° e 28° dias de armazenamento do produto a 4°C para microrganismos mesófilos e psicrotróficos. As análises microbiológicas de Coliformes a 35°C, Coliformes a 45°C, Estafilococos coagulase positiva, *Salmonella sp* e Clostrídios sulfito redutores foram realizadas apenas no dia 0° de armazenamento (APHA, 2001; BRASIL, 2003).

Análise estatística

Os resultados foram analisados estatisticamente pelo teste de variância (ANOVA) de uma via e teste de comparação de médias (Tukey), utilizando nível de significância de 5 %. As análises foram realizadas utilizando o programa estatístico SPSS 17.0.

Resultados e Discussão

Análises físico-químicas

Os resultados obtidos para a composição centesimal (Tabela 1) mostram que os produtos estão de acordo com o padrão de identidade e qualidade do produto (BRASIL, 2000), que estabelece o valor máximo de 70 % para umidade, valor máximo de 30 % para lipídeos e o valor mínimo de 12 % para proteína. Pode-se observar diferença ($p < 0,05$) nos percentuais de cinzas e gordura. Os teores de umidade e proteína não apresentam diferença ($p > 0,05$) entre os tratamentos.

Tabela 1. Composição centesimal da linguiça de carne suína armazenada a 4°C.

Tratamentos	Umidade g(%)	Proteína g(%)	Cinzas g(%)	Gordura g(%)
0 % EC	61,56±0,91 ^a	13,99±0,09 ^a	3,36±0,04 ^b	14,58±0,42 ^b
0,5 % EC	61,44±0,97 ^a	13,67±0,92 ^a	3,43±0,07 ^{ab}	16,58±0,70 ^a
1,0 % EC	62,35±0,49 ^a	14,15±0,59 ^a	3,50±0,05 ^a	16,17±0,27 ^a
2,0 % EC	61,75±0,61 ^a	14,48±0,89 ^a	3,31±0,05 ^b	14,96±0,17 ^b

^aMédias na mesma coluna com letras iguais sobrescritas não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Médias ± desvio padrão de análises em triplicata.

EC= Extrato de cogumelo do sol.

Fonte: Elaboração dos autores.

Em relação à cinzas e gordura, Mercadante et al. (2010) ao avaliar o efeito de pigmentos naturais na estabilidade lipídica de produtos cárneos armazenados sob refrigeração encontraram valores para cinzas de 3,3 a 3,7 g %, variação muito próxima a 3,31 a 3,50 g % obtidos neste estudo e para gordura valores de 12,2 a 15,4 g % diferindo de 14,58 a 16,58 g % (Tabela 1). Estas variações representam índices aceitáveis, considerando a dificuldade de homogeneização das matérias-primas (carne suína e toucinho) dos tratamentos durante o processamento.

Os resultados do efeito do extrato hidroetanólico de cogumelo do sol (*Agaricus blazei* Murril) no

pH da linguiça de carne suína durante o período de armazenamento a 4°C são apresentados na Tabela 2. No geral, o pH diminuiu ($p < 0,05$) em todos os tratamentos durante o armazenamento. No início do armazenamento, o pH não foi diferente ($p > 0,05$) entre o controle e os demais tratamentos. No entanto, a partir do dia 21, o pH foi maior ($p < 0,05$) na amostra controle. Isto pode ser atribuído à diferença de multiplicação bacteriana no controle em comparação aos demais tratamentos, de forma que uma maior contagem bacteriana aeróbica pode ser manifestada pelo aumento de pH (BISWAS; CHATLI; SAHOO, 2012).

Tabela 2. Valores de pH da linguiça de carne suína durante o período de armazenamento a 4°C.

	0 % EC	0,5 % EC	1,0 % EC	2,0 % EC
Dia 0	6,04±0,04 ^{AA}	6,07±0,02 ^{AA}	6,04±0,11 ^{AA}	6,08±0,04 ^{AA}
Dia 7	6,03±0,03 ^{AA}	5,80±0,01 ^{CB}	5,82±0,01 ^{CB}	5,91±0,02 ^{AB}
Dia 14	5,69±0,09 ^{AB}	5,52±0,06 ^{AC}	5,77±0,06 ^{AB}	5,75±0,15 ^{AB}
Dia 21	5,46±0,04 ^{AC}	5,33±0,01 ^{BD}	5,35±0,02 ^{BC}	5,40±0,04 ^{ABC}
Dia 28	5,49±0,09 ^{AC}	5,13±0,01 ^{CE}	5,23±0,03 ^{BC}	5,31±0,02 ^{BC}

^aMédias na mesma linha com letras iguais sobrescritas não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

^AMédias na mesma coluna com letras iguais sobrescritas não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Médias ± desvio padrão de análises em triplicata.

EC= Extrato de cogumelo do sol.

Fonte: Elaboração dos autores.

Uma diminuição no valor de pH ao longo dos dias de armazenamento também foi relatado por Joseph et al. (2012) em linguiça de carne suína refrigerada adicionada de produtos de tomate, que observaram redução de 5,94 até 5,38 durante 9 dias de armazenamento, sendo esta variação de pH entre os tratamentos atribuídas a diferenças inerentes ao pH de produtos de tomate.

O teste de TBARS quantifica o malonaldeído, um dos principais produtos da decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poliinsaturados,

formado durante o processo oxidativo. Neste estudo, os valores de TBARS aumentaram ($p < 0,05$) durante o armazenamento em todos os tratamentos, evidenciando a oxidação lipídica. No entanto, houveram diferenças ($p < 0,05$) entre o controle e os demais tratamentos (Tabela 3), observando-se que ao 21º dia de armazenamento apenas o tratamento adicionado de 2 % de extrato hidroetanólico de cogumelo do sol apresentou valor de TBARS (0,705±0,01) inferior ($p < 0,05$) ao controle (1,097±0,11) e abaixo de 1,0 mg de MDA/kg de amostra.

Tabela 3. Valores de TBARS (mg MDA/Kg de amostra) das amostras de linguiça de carne suína durante o período de armazenamento a 4°C.

	0 % EC	0,5 % EC	1,0 % EC	2,0 % EC
Dia 0	0,334±0,07 ^{aD}	0,289±0,07 ^{aD}	0,171±0,07 ^{bE}	0,058±0,03 ^{cD}
Dia 7	0,340±0,08 ^{bD}	0,530±0,08 ^{aC}	0,507±0,04 ^{aD}	0,465±0,05 ^{aC}
Dia 14	0,739±0,09 ^{bC}	1,365±0,07 ^{aB}	0,732±0,12 ^{bC}	0,694±0,05 ^{bB}
Dia 21	1,097±0,11 ^{bB}	1,289±0,07 ^{aB}	1,089±0,02 ^{bB}	0,705±0,01 ^{cB}
Dia 28	1,320±0,12 ^{dA}	2,051±0,03 ^{aA}	1,758±0,03 ^{bA}	1,635±0,03 ^{aA}

^aMédias na mesma linha com letras iguais sobrescritas não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

^AMédias na mesma coluna com letras iguais sobrescritas não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Médias ± desvio padrão de análises em quintuplicata.

EC= Extrato de cogumelo do sol.

Fonte: Elaboração dos autores.

Ahmad e Srivastava (2007) relataram que no intervalo de valores de TBARS entre 0,5 e 1,0 mg de MDA/kg de amostras de carne, não é possível detectar odor de ranço no produto. Entretanto, os autores também relataram que valores de TBARS entre 1 e 2 mg de MDA/kg de produto inicia-se a detecção sensorial de oxidação lipídica. Os valores de TBARS encontrados neste trabalho, relacionado a linguiça de carne suína, em todos os casos avaliados, ao 28º dia de armazenamento apresentaram-se entre 1,320 e 2,051 mg MDA/kg de amostra, o que faria a oxidação lipídica perceptível por parte dos consumidores.

É importante ressaltar que o produto elaborado neste estudo, linguiça de carne suína, nas condições de processamento, embalagem e armazenamento submetidas, apresenta-se muito vulnerável a desenvolver uma maior oxidação lipídica, além de, em sua formulação, ser permitido altos níveis de gordura (JOSEPH et al., 2012).

A atividade antioxidante *in vitro* do cogumelo do sol (*Agaricus blazei* Murril) tem sido estudada, a qual é comprovadamente efetiva (HUANG; MAU, 2006; SOARES et al., 2009). Entretanto, aplicado a um produto cárneo, como a linguiça de carne suína, pode-se observar que o tratamento adicionado de 0,5 % EC apresenta valores de TBARS iguais ou superiores ao controle, desde o dia 0 até o dia 28 de armazenamento.

Considerando o composto eritorbato de sódio comumente utilizado em produtos cárneos para melhorar a cor, inibir crescimento microbiológico e oxidação lipídica (BARRINGER; ABU-ALI; CHUNG, 2005), quando adicionado em baixas concentrações (< 200-300 mg/kg) em produtos cárneos atua como pró-oxidante, enquanto que em altas concentrações (> 300 mg/kg) desempenha capacidade antioxidante eficiente (LEE et al., 2006).

Desta forma, observa-se que a adição de extrato hidroetanólico de cogumelo do sol é capaz de proporcionar melhores resultados em relação à estabilidade oxidativa de linguiça de carne suína quando comparado ao controle, deste que adicionado na concentração de 2 %, podendo estender a vida útil até 21 dias de armazenamento utilizando embalagem permeável ao oxigênio e mantido a 4°C.

A cor é um dos principais fatores que interfere na aceitabilidade do consumidor frente a inovações em produtos cárneos, tendo a capacidade de atrair ou repelir a intenção de compra. Processos oxidativos estão associados com a descoloração destes produtos, uma vez que a oxidação lipídica resulta na formação de pró-oxidantes capazes de reagir com a oximioglobina, conduzindo a formação de metamioglobina, de forma que esta mudança irreversível contribui para o desenvolvimento de características sensoriais inaceitáveis, dentre outras, coloração alterada (GEORGANTELIS et al., 2007).

Os valores de L^* (luminosidade) das linguças de carne suína variaram ($p < 0,05$) entre os tratamentos e os dias de armazenagem (Tabela 4). Desde o 1º até o 14º dia de armazenamento o valor de L^* foi inferior ($p < 0,05$) nos tratamentos adicionados de extrato hidroetanólico de cogumelo do sol do que no controle, alterando-se a partir do 21º dia de maneira a não haver diferença estatística entre o controle e o tratamento adicionado de 2 % EC. Estes resultados indicam que as linguças de carne suína que contêm as diferentes concentrações de cogumelo do sol apresentavam-se mais escuras do que o controle, visto que os valores de L^* (luminosidade) variam de preto (0 %) a branco (100 %) (RAMOS; GOMIDE, 2009).

Joseph et al. (2012) também relataram uma diminuição no valor de L^* em produto cárneo adicionado de compostos de tomate quando comparadas ao controle. Observações semelhantes foram registradas também em embutido cárneo suíno armazenado sob refrigeração com a adição de extratos de folhas de *curry* e hortelã (BISWAS; CHATLI; SAHOO, 2012), sendo possível confirmar que extratos vegetais incorporados em produtos cárneos são capazes de alterar a sua coloração característica (KIM; CHO; HAN, 2013).

A coloração vermelha de produtos cárneos é um importante componente do apelo visual para consumidores (SHAN et al., 2009), sendo o índice a^* , o parâmetro de cor mais sensível na caracterização da cor vermelha e na sua estabilidade (RAMOS; GOMIDE, 2009). Quanto a cor das linguças verificou-se a diminuição dos valores do parâmetro a^* durante o período de armazenamento, independente do tratamento avaliado (Tabela 4).

Esta redução de a^* em todos os tratamentos possivelmente está relacionada com a oxidação lipídica (Tabela 3) durante o período de estocagem. Vários autores têm estudado a cor de carne e produtos cárneos e tem relatado que a oxidação causa uma diminuição no valor a^* , relacionada com a formação e o acúmulo de metamioglobina (RENERRE, 2000; SHAN et al., 2009; KIM; CHO; HAN, 2013). Produtos primários da oxidação lipídica, como os hidroperóxidos e outros radicais livres são conhecidos por oxidar o íon ferroso (Fe^{2+}) de oximioglobina em íon férrico (Fe^{3+}) componente da metamioglobina. Da mesma forma, os produtos secundários da oxidação lipídica (por exemplo, aldeídos insaturados) também podem acelerar a formação de metamioglobina em produtos cárneos (FAUSTMAN et al., 2010).

Tabela 4. Parâmetros de cor instrumental (L^* , a^* , b^* , C^* e h^*) da linguça de carne suína durante o período de armazenagem a 4°C.

		Dia 1	Dia 7	Dia 14	Dia 21	Dia 28
L^*	0 %EC	59,91±1,03 ^{ba}	60,23±1,16 ^{ba}	60,76±1,73 ^{ba}	58,36±1,76 ^{bb}	66,83±1,64 ^{aA}
	0,5 %EC	55,85±0,88 ^{cb}	55,41±0,57 ^{cb}	59,15±1,78 ^{baB}	64,51±1,58 ^{aA}	63,33±1,05 ^{ab}
	1,0 %EC	54,51±1,50 ^{cb}	56,98±1,99 ^{bcB}	57,89±1,86 ^{baB}	62,07±1,98 ^{abB}	61,53±1,30 ^{ab}
	2,0 %EC	55,85±0,98 ^{cb}	56,48±1,79 ^{cb}	58,30±1,89 ^{bcB}	60,02±1,12 ^{bb}	66,53±1,41 ^{aA}
a^*	0 %EC	18,03±0,37 ^{aA}	16,93±0,85 ^{ba}	16,31±0,47 ^{ba}	14,91±0,41 ^{cA}	13,54±0,64 ^{dAB}
	0,5 %EC	16,81±0,31 ^{aB}	15,35±0,39 ^{aA}	12,33±1,38 ^{bb}	10,19±0,98 ^{cb}	9,99±0,25 ^{cC}
	1,0 %EC	16,86±0,37 ^{aB}	16,10±1,79 ^{abA}	15,49±0,95 ^{abA}	15,73±0,23 ^{abA}	14,21±1,13 ^{ba}
	2,0 %EC	15,48±0,59 ^{aC}	15,39±0,71 ^{aA}	15,18±0,59 ^{aA}	14,55±1,19 ^{abA}	13,38±0,56 ^{bb}
b^*	0 %EC	11,87±0,13 ^{ba}	12,12±0,40 ^{ba}	12,10±0,36 ^{ba}	12,04±0,25 ^{bb}	12,79±0,20 ^{ab}
	0,5 %EC	11,12±0,23 ^{db}	11,92±0,25 ^{cdA}	12,73±0,36 ^{bcA}	13,21±0,93 ^{ba}	15,07±0,46 ^{aA}
	1,0 %EC	11,26±0,18 ^{cb}	11,96±0,57 ^{bcA}	12,24±0,33 ^{bcA}	12,43±0,75 ^{abAB}	13,26±0,58 ^{ab}
	2,0 %EC	11,29±0,39 ^{bb}	12,01±0,62 ^{abA}	12,27±0,52 ^{abA}	12,31±0,35 ^{abB}	12,72±0,79 ^{ab}

continua

continuação

C*	0 %EC	22,08±0,33 ^{aA}	20,68±0,78 ^{bA}	20,26±0,56 ^{bA}	19,21±0,41 ^{cA}	18,16±0,57 ^{dB}
	0,5 %EC	20,15±0,26 ^{aB}	19,94±0,39 ^{aA}	18,05±0,84 ^{bB}	17,17±0,85 ^{bcB}	16,72±0,41 ^{cC}
	1,0 %EC	20,27±0,32 ^{aB}	20,07±1,75 ^{aA}	19,74±0,91 ^{aA}	19,10±1,02 ^{aA}	20,59±0,72 ^{aA}
	2,0 %EC	19,16±0,48 ^{aC}	19,53±0,89 ^{aA}	19,52±0,66 ^{aA}	19,27±0,87 ^{aA}	18,46±0,80 ^{aB}
h*	0 %EC	34,84±0,36 ^{cAB}	35,24±1,56 ^{cC}	36,36±0,62 ^{cB}	39,10±0,69 ^{bb}	41,74±0,93 ^{ABC}
	0,5 %EC	33,48±0,86 ^{dB}	39,62±0,69 ^{cA}	44,84±1,91 ^{bA}	52,52±1,34 ^{aA}	56,42±1,25 ^{aA}
	1,0 %EC	33,62±0,60 ^{bB}	33,58±0,53 ^{bD}	38,30±1,21 ^{aB}	40,82±1,40 ^{aB}	40,10±1,90 ^{aC}
	2,0 %EC	36,06±1,49 ^{cA}	37,86±0,81 ^{bcB}	38,88±1,20 ^{bcB}	39,72±1,31 ^{bb}	43,48±1,72 ^{aB}

^aMédias na mesma linha com letras iguais sobrescritas não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

^AMédias na mesma coluna com letras iguais sobrescritas não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Médias ± desvio padrão de análises em quintuplicata.

EC= Extrato de cogumelo do sol.

Fonte: Elaboração dos autores.

Além disso, cabe ressaltar que no dia 1º de armazenamento, o tratamento controle apresentou valor de a* maior (p<0,05) do que os demais tratamentos (Tabela 4), demonstrando maior intensidade de coloração vermelha, devido a pigmentação em tom amarelado característico do extrato de cogumelo do sol incorporado aos demais tratamentos de linguiças. Ao longo do período de armazenamento, todos os tratamentos mantiveram-se sem diferença (p>0,05), exceto o tratamento 0,5 % EC que apresentou um aceleração da oxidação lipídica (Tabela 3) com redução acentuada nos valores de a*, provavelmente devido a atividade pró-oxidante desenvolvida neste tratamento.

Por outro lado, o valor b* (cor amarela) apresentou aumento (p<0,05) ao longo do período de armazenamento, visto que a intensidade de coloração vermelha diminuía, a intensidade de coloração amarela aumentava, independente do tratamento avaliado (Tabela 4). Entre os tratamentos analisados ao longo da estocagem, todos mantiveram-se sem diferença (p>0,05), exceto o tratamento 0,5 % EC que apresentou valores superiores de b*, pela aceleração da oxidação lipídica neste tratamento, que tende a aumentar a cor amarela de produtos cárneos proporcionalmente ao aumento de intensidade desta reação durante o armazenamento (GARCÍA-ESTEBAN; ANSORENA; ASTIASARÁN, 2004).

O ângulo de tonalidade (h*) é a grandeza associada aos comprimentos de onda do espectro

visível, representando a qualidade da cor predominante do objeto analisado (RAMOS; GOMIDE, 2009). Considerando que o ângulo h* é uma medida derivada dos valores de a* e b* (RAMOS; GOMIDE, 2009) pode-se observar o valor h* do tratamento 0,5 % EC superior (p<0,05) aos demais tratamentos ao longo do período de armazenamento pela acentuada diferença entre os valores de a* e b* (Tabela 4). Quando avaliado o ângulo de tonalidade h* em produtos cárneos adicionados de pó de tomate, os resultados corroboraram com os encontrados neste estudo, confirmando a influência das medidas de a* e b* no valor deste ângulo (MODZELEWSKA-KAPITUŁA, 2012).

O índice de saturação (C*) expressa a intensidade da cor, a partir de um desvio do ponto correspondente ao cinza no eixo L*, onde valores próximos de zero representam cores neutras (cinzas), enquanto que próximos de 60 expressam cores vividas (MENDONÇA et al., 2003; RAMOS; GOMIDE, 2009). Os valores de C* apresentaram-se superiores no início do experimento para todos os tratamentos, indicando a perda de cores vividas ao longo do período de armazenamento.

A avaliação da cor de carne suína e sua relação com a resposta dos consumidores indicou o índice de saturação como um dos parâmetros de cor instrumental mais eficiente para representar esta relação (IQBAL et al., 2010), em concordância

com os resultados deste estudo, onde observou-se a relação de diminuição nos valores de C* e a percepção de cores mais neutras do produto (STEFANELLO et al., 2013).

Análises microbiológicas

A avaliação microbiológica dos diferentes tratamentos de linguiça de carne suína, durante o período de armazenamento de 28 dias a 4°C, baseou-se na contagem de microrganismos aeróbios mesófilos totais e psicrotróficos (Tabela 5), que podem ser utilizados para indicar a qualidade sanitária e a inocuidade de produtos cárneos, fornecendo uma estimativa da população geral de microrganismos presentes num intervalo amplo de temperatura, de forma que altos níveis de contaminação estão associados à baixa qualidade e à aceleração do processo de deterioração (JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005).

Os resultados apresentados na Tabela 5 mostram que a população microbiana de aeróbios mesófilos das linguiças de carne suína não apresentou

diferença ($p > 0,05$) com a adição do extrato hidroetanólico de cogumelo do sol considerando os dias 1º e 7º de armazenamento. A partir do dia 14º até o dia 28º de armazenamento, o tratamento de maior concentração do extrato adicionado (2,0 % EC), apresentou-se com valores inferiores ($p < 0,05$) ao controle. Entretanto, a partir do 14º dia de armazenamento, todos os tratamentos apresentaram contagens de microrganismos aeróbios mesófilos ($6,39 \pm 0,04$ a $7,14 \pm 0,09$ Log UFC/g) acima de 6,0 Log UFC/g ultrapassando a faixa limite aceitável de contaminação bacteriana conforme Terra (1998).

Em estudo realizado por Kim, Cho e Han (2013) ao avaliar as alterações microbiológicas de produto cárneo fresco de carne bovina com 20 % de toucinho suíno, adicionada de 0,5 % de extrato vegetal de folha verde Chamnamul (planta típica do leste da Ásia) estocada a 4°C, observaram que ao 6º dia de armazenamento a contagem de microrganismos aeróbios mesófilos totais foi de $6,00 \pm 0,14$ Log UFC/g, enquanto que no controle foi de $6,97 \pm 0,28$ Log UFC/g, demonstrando que tal extrato apresenta certa atividade antimicrobiana, embora com vida útil reduzida.

Tabela 5. Contagem de microrganismos aeróbios mesófilos totais e psicrotróficos (Log UFC/g) em amostras de linguiça de carne suína durante o período de armazenamento a 4°C.

		Dia 1	Dia 7	Dia 14	Dia 21	Dia 28
Aeróbios Mesófilos Totais	0 % EC	5,89±0,21 ^{ca}	5,71±0,26 ^{ca}	6,91±0,17 ^{baB}	7,33±0,05 ^{aA}	7,58±0,05 ^{aA}
	0,5 % EC	5,69±0,24 ^{ba}	5,76±0,19 ^{ba}	7,14±0,09 ^{aA}	7,20±0,05 ^{aB}	7,34±0,09 ^{aB}
	1,0 % EC	5,47±0,23 ^{da}	5,90±0,13 ^{ca}	6,39±0,04 ^{bc}	7,32±0,03 ^{aA}	7,14±0,04 ^{aC}
	2,0 % EC	5,19±0,60 ^{ba}	5,70±0,28 ^{ba}	6,78±0,14 ^{aB}	7,08±0,05 ^{aB}	7,16±0,09 ^{aC}
Psicrotróficos	0 % EC	5,76±0,18 ^{dAB}	5,98±0,09 ^{cdA}	6,17±0,07 ^{bcC}	7,15±0,10 ^{aA}	6,33±0,14 ^{bb}
	0,5 % EC	5,56±0,11 ^{cBC}	6,01±0,06 ^{ba}	7,17±0,05 ^{aA}	7,10±0,08 ^{aA}	6,03±0,12 ^{bc}
	1,0 % EC	5,53±0,53 ^{cC}	6,12±0,14 ^{bcA}	6,18±0,04 ^{bc}	6,96±0,32 ^{aA}	6,39±0,14 ^{abB}
	2,0 % EC	5,84±0,10 ^{da}	5,84±0,29 ^{da}	6,34±0,08 ^{cB}	7,05±0,11 ^{aA}	6,69±0,05 ^{ba}

^aMédias na mesma linha com letras iguais sobrescritas não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

^AMédias na mesma coluna com letras iguais sobrescritas não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Médias ± desvio padrão de análises em quadruplicata.

EC= Extrato de cogumelo do sol.

Fonte: Elaboração dos autores.

Os produtos cárneos frescos armazenados em embalagem permeável ao oxigênio e mantidos sob refrigeração são predispostos ao crescimento microbiano, diminuindo a sua vida útil (PAULA et al., 2011; KIM; CHO; HAN, 2013). Tais resultados corroboram com os encontrados neste estudo, onde a linguiça de carne suína manteve-se dentro do limite aceitável de contaminação microbiana durante 14 dias de armazenamento, demonstrando que a adição do extrato hidroetanólico de cogumelo do sol não foi capaz de desenvolver atividade antimicrobiana eficiente.

Da mesma forma, pode-se observar que os resultados da contagem de microrganismos psicrotóxicos (Tabela 5) oscilaram entre todos os tratamentos ao longo dos dias de armazenamento das linguiças de carne suína, não sendo possível observar valores inferiores ($p < 0,05$) nos tratamentos adicionados do extrato hidroetanólico de cogumelo do sol em relação ao controle. Cabe ressaltar que

a partir do 7º dia de armazenamento as contagens deste microrganismo estavam próximo de 6,0 Log UFC/g, e em seguida, a partir do dia 14º todos os tratamentos ultrapassaram este limite aceitável de contaminação bacteriana, estabelecido por TERRA (1998).

É importante ressaltar que diversos estudos nos últimos anos têm comprovado o poder medicinal do cogumelo do sol, incentivando o seu uso na medicina prática brasileira, inclusive com relatos de possível atividade antimicrobiana (DIAS; ABE; SCHWAN, 2004), entretanto, tal atividade não foi observada nas condições estudadas.

A Tabela 6 apresenta os valores médios da contagem de Estafilococos coagulase positiva, Coliformes Totais a 35°C, Coliformes a 45°C, *Salmonella sp* e Clostrídios sulfito redutores em amostras de linguiça de carne suína estabelecidos pela legislação brasileira (BRASIL, 2001) armazenada a 4°C.

Tabela 6. Contagem de Estafilococos coagulase positiva, Coliformes Totais a 35°C, Coliformes a 45°C, *Salmonella sp* e Clostrídios sulfito redutores em amostras de linguiça de carne suína ao início do período de armazenamento a 4°C.

	Tratamentos	Contagem (Log UFC/g)
Estafilococos coagulase positiva	0 % EC	3,39±0,11 ^a
	0,5 % EC	3,26±0,32 ^{ab}
	1,0 % EC	2,70±0,49 ^b
	2,0 % EC	2,89±0,37 ^{ab}
Coliformes Totais a 35°C	0 % EC	3,50±0,07 ^a
	0,5 % EC	3,13±0,55 ^a
	1,0 % EC	3,33±0,24 ^a
	2,0 % EC	2,98±0,20 ^a
Coliformes a 45°C	Todos	< 1,00
<i>Salmonella sp</i>	Todos	Ausente
Clostrídios sulfito redutores	Todos	< 1,00

^a Médias na mesma coluna com letras iguais sobrescritas não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Médias ± desvio padrão de análises em quadruplicata.

EC= Extrato de cogumelo do sol.

Fonte: Elaboração dos autores.

A contagem de *Estafilococos* coagulase positiva apresentou resultados entre $2,70 \pm 0,49$ a $3,39 \pm 0,11$ Log UFC/g, mantendo-se dentro do limite permitido (BRASIL, 2001), que estabelece a tolerância de até 3,70 Log UFC/g. Da mesma forma, a contagem média de Coliformes Totais a 35°C oscilou de $2,98 \pm 0,20$ a $3,50 \pm 0,07$ Log UFC/g e para Coliformes a 45°C apresentou valores inferiores a $< 1,00$ Log UFC/g não havendo diferença ($p > 0,05$) entre os tratamentos e de acordo com o limite estabelecido pela legislação nacional vigente de 3,70 Log UFC/g para Coliformes a 45°C (BRASIL, 2001).

Dentre os microrganismos patogênicos, destaca-se *Salmonella sp.*, que apresenta-se com alta prevalência em frigorífico de abate de suínos, de forma que Castagna et al. (2004) detectaram este microrganismo em 83,33 % dos animais na sala de abate e posteriormente a prevalência média de 93,94 % no produto final (linguiça frescal). Neste estudo não foi detectada a presença de *Salmonella sp.* e Clostrídios sulfito redutores em nenhum dos tratamentos, atendendo os padrões estabelecidos pela legislação (BRASIL, 2001), que estabelece ausência para *Salmonella sp.* em 25g de amostra e máximo de 3,48 Log UFC/g para Clostrídios sulfito redutores.

Conclusões

O extrato hidroetanólico de cogumelo do sol (*Agaricus blazei* Murril) mostrou ser efetivo sobre a estabilidade oxidativa de linguiça de carne suína quando adicionado na concentração de 2,0 % estendendo a vida útil até 21 dias de armazenamento, nas condições de embalagem permeável ao oxigênio e temperatura de 4°C. Não possuiu efeito sobre a estabilidade microbiológica, entretanto, não alterou a composição centesimal das linguiças em relação ao estabelecido pelo padrão de identidade e qualidade do produto. Conclui-se que é viável a aplicabilidade de extrato de cogumelo do sol em linguiça de carne suína, como uma fonte antioxidante natural capaz

de garantir a manutenção dos atributos de qualidade ao longo da vida útil do produto.

Dentro deste contexto, o produto desenvolvido foi capaz de atender a perspectiva de desenvolvimento de ingrediente antioxidante natural dentro das necessidades da indústria cárnea para satisfazer as novas exigências do consumidor moderno. Além deste promissor potencial tecnológico, é cientificamente demonstrado como fonte de compostos bioativos com importantes propriedades terapêuticas.

Referências

- AHMAD, S.; SRIVASTAVA, P. K. Quality and shelf life evaluation of fermented sausages of buffalo meat with different levels of heart and fat. *Meat Science*, Barking, v. 75, n. 4, p. 603-609, 2007.
- AHN, J.; GRÜN, I. U.; MUSTAPHA, A. Effects of plant extracts on microbial growth, color change, and lipid oxidation in cooked beef. *Food Microbiology*, Illinois, v. 24, n. 1, p. 7-14, 2007.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA. Committee on microbiological methods for foods. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 4. ed. Washington: APHA, 2001. 676 p.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. Official methods of analysis of the Association Analytical Chemists. 18. ed. Gaithersburg, Maryland: AOAC. 2005. 1230 p.
- BARRINGER, S. A.; ABU-ALI, J.; CHUNG, H. J. Electrostatic powder coating of sodium erythorbate and GDL to improve color and decrease microbial counts on meat. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, Columbus, v. 6, n. 2, p. 189-193, 2005.
- BISWAS, A. K.; CHATLI, M. K.; SAHOO, J. Antioxidant potential of curry (*Murrayakoenigii* L.) and mint (*Menthaspicata*) leaf extracts and their effect on colour and oxidative stability of raw ground pork meat during refrigeration storage. *Food Chemistry*, Reading, v. 133, n. 2, p. 467-472, 2012.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. *Diário Oficial [da] União*, Brasília, 02 jan. 2001. Seção 1, p. 46-53.

- _____. Instrução Normativa nº 4, de 31 de março de 2000. Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada, de Mortadela, de Linguiça e de Salsicha. *Diário Oficial [da] União*, Brasília, 31, mar. 2000. Seção 3, p. 7-12.
- _____. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. *Diário Oficial [da] União*, Brasília, 26, ago. 2003. Seção 1, p. 1-76.
- BUKVIČKI, D.; STOJKOVIĆ, D.; SOKOVIĆ, M.; VANNINI, L.; MONTANARI, C.; PEJIN, B.; SAVIĆ, A.; VELJIĆ, M.; GRUJIĆ, S.; MARIN, P. D. *Satureja horvatii* essential oil: In vitro antimicrobial and antiradical properties and in situ control of *Listeria monocytogenes* in pork meat. *Meat Science*, Barking, v. 96, n. 3 p. 1355-1360, 2014.
- CASTAGNA, S. M. F.; SCHWARZ, P.; CANAL, C. W.; CARDOSO, M. Prevalência de suínos portadores de *Salmonella sp* ao abate e contaminação de embutidos frescal. *Acta Scientiae Veterinariae*, Porto Alegre, v. 32, n. 2, p. 141-147, 2004.
- DAVE, D.; GHALY, A. E. Meat spoilage mechanisms and preservation techniques: a critical review. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, New York, v. 6, n. 4, p. 486-510, 2011.
- DEJONG, S.; LANARI, M. C. Extracts of olive polyphenols improve lipid stability in cooked beef and pork: Contribution of individual phenolics to the antioxidant activity of the extract. *Food Chemistry*, Reading, v. 116, n. 4, p. 892-897, 2009.
- DEVATKAL, S. K.; NARSAIAH, K.; BORAH, A. Antioxidant effect of extracts of kinnow rind, pomegranate rind and seed powders in cooked goat meat patties. *Meat Science*, Barking, v. 85, n. 1, p. 155-159, 2010.
- DIAS, E. S.; ABE, C.; SCHWAN, R. F. Truths and myths about the mushroom *Agaricus blazei*. *Scientia Agricola*, Piracicaba, v. 61, n. 5, p. 545-549, 2004.
- FAUSTMAN, C.; SUN, Q.; MANCINI, R.; SUMAN, S. P. Myoglobin and lipid oxidation interactions: mechanistic bases and control. *Meat Science*, Barking, v. 86, n. 1, p. 86-94, 2010.
- FRANCO, D.; GONZÁLEZ, L.; BISPO, E.; LATORRE, A.; MORENO, T.; SINEIRO, J.; SÁNCHEZ, M.; NÚÑEZ, M. J. Effects of calf diet, antioxidants, packaging type and storage time on beef steak storage. *Meat Science*, Barking, v. 90, n. 4, p. 871-880, 2012.
- GARCÍA-ESTEBAN, M.; ANSORENA, D.; ASTIASARÁN, I. Comparison of modified atmosphere packaging and vacuum packaging for long period storage of dry-cured ham: effects on colour, texture and microbiological quality. *Meat Science*, Barking, v. 67, n. 1, p. 57-63, 2004.
- GEORGANTELIS, D.; BLEKAS, G.; KATIKOU, P.; AMBROSIADIS, I.; FLETOURIS, D. J. Effect of rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on lipid oxidation and colour stability during frozen storage of beef burgers. *Meat Science*, Barking, v. 75, n. 2, p. 266-274, 2007.
- GUTERREZ, Z. R.; MANTOVANI, M. S.; EIRA, A. S.; RIBEIRO, L. R.; JORDÃO, B. Q. Variation of the antimutagenicity effects of water extracts of *Agaricus blazei* Muril in vitro. *Toxicology*, Hamburg, v. 18, n. 3, p. 301-309, 2004.
- HIGGINBOTHAM, K. L.; BURRIS, K. P.; ZIVANOVIC, S.; DAVIDSON, P. M.; STEWART JUNIOR., C. N. Aqueous extracts of *Hibiscus sabdariffa* calyces as an antimicrobial rinse on hot dogs against *Listeria monocytogenes* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Food Control*, Berkshire, v. 40, n. 1, p. 274-277, 2014.
- HUANG, S. J.; MAU, J. L. Antioxidant properties of methanolic extracts from *Agaricus blazei* with various doses of γ -irradiation. *LWT- Food Science and Technology*, Zürich, v. 39, n. 7, p. 707-716, 2006.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ – IAL. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4. ed. São Paulo: Secretaria de Estado da Saúde, 2008. cap. 6, p. 279-320.
- IQBAL, A.; VALOUS, N. A.; MENDOZA, F.; SUN, D. V.; PAUL ALLEN, P. Classification of pre-sliced pork and Turkey ham qualities based on image colour and textural features and their relationships with consumer responses. *Meat Science*, Barking, v. 84, n. 3, p. 455-465, 2010.
- JAY, J. M.; LOESSNER, M. J.; GOLDEN, D. A. *Modern food microbiology*. 7. ed. New York: Springer, 2005, 790 p.
- JOSEPH, S.; CHATLI, M. K.; BISWAS, A. K.; SAHOO, J. Oxidative stability of pork emulsion containing tomato products and pink guava pulp during refrigerated aerobic storage. *Journal of Food and Science Technology*, Mysore, 2012.
- KANATT, S. R.; CHANDER, R.; RADHAKRISHNA, P.; SHARMA, A. Potato peel extract-a natural antioxidant for retarding lipid peroxidation in radiation processed

- lamb meat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Davis, v. 53, n. 5, p. 1499-1504, 2005.
- KIM, S. J.; CHO, A. R.; HAN, J. Antioxidant and antimicrobial activities of leafy green vegetable extracts and their applications to meat product preservation. *Food Control*, Berkshire, v. 29, n. 1, p. 112-120, 2013.
- KIM, Y. W.; KIM, K. H.; CHOI, H. J.; LEE, D. S. Anti-diabetic activity of beta-glucans and their enzymatically hydrolyzed oligosaccharides from *Agaricus blazei*. *Biotechnology Letters*, Hull, v. 27, n. 7, p. 483-487, 2005.
- KULKARNI, S.; DESANTOS, F. A.; KATTAMURI, S.; ROSSI, S. J.; BREWER, M. S. Effect of grape seed extract on oxidative, color and sensory stability of a pre-cooked, frozen, re-heated beef sausage model system. *Meat Science*, Barking, v. 88, n. 1, p. 139-144, 2011.
- LEE, S.; FAUSTMAN, C.; DJORDJEVIC, D.; FARAJI, H.; DECKER, E. A. Effect of antioxidants on stabilization of meat products fortified with n-3 fatty acids. *Meat Science*, Barking, v. 72, n. 1, p. 18-24, 2006.
- MENDONÇA, K.; JACOMINO, A. P.; MELHEM, T. X.; KLUGE, R. A. Concentração de etileno e tempo de exposição para desverdecimento de limão 'siciliano'. *Brazilian Journal of Food Technology*, Campinas, v. 6, n. 2, p. 179-183, 2003.
- MERCADANTE, A. Z.; CAPITANI, C. D.; DECKER, E. A.; CASTRO, I. A. Effect of natural pigments on the oxidative stability of sausages stored under refrigeration. *Meat Science*, Barking, v. 84, n. 4, p. 718-726, 2010.
- MODZELEWSKA-KAPITULA, M. Effects of tomato powder on color, lipid oxidation and sensory properties of comminuted meat products. *Journal of Food Quality*, Malden, v. 35, n. 5, p. 323-330, 2012.
- MURZAKHMETORA, M.; MOLDAKARIMOV, S.; TANCHEVA, L.; ABAROVA, S.; SERKEDJIEVA, J. Antioxidant and prooxidant properties of a polyphenol-rich extract from *Geranium sanguineum* L. in vitro and in vivo. *Phytotherapy Research*, Malden, v. 22, n. 6, p. 746-751, 2008.
- NIU, Y. C.; LIU, J. C.; ZHAO, X. M.; WU, X. X. A low molecular weight polysaccharide isolated from *Agaricus blazei* suppresses tumor growth and angiogenesis in vivo. *Oncology Reports*, Athens, v. 21, n. 1, p. 145-152, 2009.
- OKE, F.; ASLIM, B. Protective effect of two edible mushrooms against oxidative cell damage and their phenolic composition. *Food Chemistry*, Reading, v. 128, n. 3, p. 613-619, 2011.
- PADILHA, M. M.; AVILA, A. A.; SOUSA, P. J.; CARDOSO, L. G.; PERAZZO, F. F.; CARVALHO, J. C. Anti-Inflammatory activity of aqueous and alkaline extracts from mushrooms (*Agaricus blazei* Muril). *Journal of Medicinal Food*, San Diego, v. 12, n. 2, p. 359-364, 2009.
- PAULA, R.; COLET, R.; OLIVEIRA, D.; VALDUGA, E.; TREICHEL, H. Assessment of different packaging structures in the stability of frozen fresh brazilian toscana sausage. *Food Bioprocess Technology*, Dublin, v. 4, n. 3, p. 481-485, 2011.
- PEREIRA, M. G. *Aplicação de antioxidantes naturais em carne mecanicamente separada (CMS) de ave*. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.
- RABABAH, T.; HETTIARACHCHY, N.; HORAX, R.; ESWARANANDAM, S.; MAUROMOUS-TAKOS, A.; DICKSON, J.; NIEBUHR, S. Effect of electron beam irradiation and storage at 5 degrees C on thiobarbituric acid reactive substances and carbonyl contents in chicken breast meat infused with antioxidants and selected plant extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Davis, v. 52, n. 26, p. 8236-8241, 2004.
- RAHARJO, S.; SOFOS, J. N.; SCHMIDT, G. R. Improved speed, specificity, and limit of determination of an aqueous acid extraction thiobarbituric acid – C18 method for measuring lipid peroxidation in beef. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Davis, v. 40, n. 11, p. 2182-2185, 1992.
- RAMOS, E. M.; GOMIDE, L. A. M. *Avaliação da qualidade de carnes: fundamentos e metodologia*. Viçosa: UFV, 2009. 599 p.
- RENERRE, M. *Review e biochemical basis of fresh meat color*. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 45., 2000, Yokohama. *Proceedings...* Yokohama: [s.n.], 2000. p. 344-352.
- RIETJENS, I. M. C. M.; BOERSMA, M. G.; HAAN, L.; SPENKELINK, B.; AWAD, H. M.; CNUBBEN, N. H. P.; ZANDEN, J. J. V.; WOUDE, H. V.; ALINK, G. M.; KOEMAN, J. H. The pro-oxidant chemistry of the natural antioxidants vitamin C, vitamin E, carotenoids and flavonoids. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, Amsterdam, v. 11, n. 3, p. 321-333, 2002.
- SHAN, B.; CAI, Y. Z.; BROOKS, J. D.; CORKE, H. Antibacterial and antioxidant effects of five spice and herb extracts as natural preservatives of raw pork. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Malden, v. 89, n. 11, p. 1879-1885, 2009.
- SIMITZIS, P. E.; DELIGEORGIS, S. G.; BIZELIS, J. A.; DARDAMANI, A.; THEODOSIOU, I.; FEGEROS, K.

- Effect of dietary oregano oil supplementation on lamb meat characteristics. *Meat Science*, Barking, v. 79, n. 2, p. 217-223, 2008.
- SINGI, G.; DAMASCENO, D. D.; ANDRÉA, E. D. D.; ALEXANDRE, G. M. B.; SINGI, M. B.; ALVES, L. C.; SIMÕES, T. I. Efeitos agudos da aplicação endovenosa do cogumelo-do sol (*Agaricus blazei* Murill) sobre a pressão arterial média e a frequência cardíaca de ratos anestesiados. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, Curitiba, v. 16, n. 4, p. 480-484, 2006.
- SMITH-PALMER, A.; STEWART, J.; FYFE, L. The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. *Food Microbiology*, Illinois, v. 18, n. 4, p. 463-470, 2001.
- SOARES, A. A.; SOUZA, C. G. M.; DANIEL, F. M.; FERRARI, G. P.; COSTA, S. M. G.; PERALTA, R. M. Antioxidant activity and total phenolic content of *Agaricus brasiliensis* (*Agaricus blazei* Murril) in two stages of maturity. *Food Chemistry*, Reading, v. 112, n. 4, p. 775-781, 2009.
- SORIMACHI, K.; IKEHARA, Y.; MAEZATO, G.; OKUBO, A.; YAMAZAKI, S.; AKIMOTO, K.; NIWA, A. Inhibition by *Agaricus blazei* Murill fractions of cytopathic effect induced by western equine encephalitis (WEE) virus on VERO cells in vitro. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, Tokyo, v. 65, n. 7, p. 1645-1647, 2001.
- STEFANELLO, F. S.; CAVALHEIRO, C. P.; SILVA, M. S.; LUDTKE, F. L.; KUBOTA, E. H. Características sensoriais de linguiça de carne suína adicionada de extrato e pó de cogumelo do sol (*Agaricus blazei* Murril). In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS – CIÊNCIA DE ALIMENTOS: IMPACTO NA NUTRIÇÃO E SAÚDE, 10., 2013, Campinas. *Resumos...* Campinas: Campinas, 2013. p. 746.
- TERRA, N. N. *Apontamentos de tecnologia de carnes*. São Leopoldo: Unisinos, 1998, 226 p.
- TERRA, N. N.; BRUM, M. A. R. *Carne e seus derivados: técnicas de controle de qualidade*. São Paulo: Nobel, 1988. 121 p.
- VALENZUELA, A.; NIETO, S. Synthetic and natural antioxidants: food quality protectors. *Grasasy Aceites*, Sevilla, v. 47, n. 3, p. 186-196, 1996.
- VAZ, J. A.; BARROS, L.; MARTINS, A.; MORAIS, J. S.; VASCONCELOS, M. H.; FERREIRA, I. C. F. R. Phenolic profile of seventeen Portuguese wild mushrooms. *LWT – Food Science and Technology*, Zürich, v. 44, n. 1, p. 343-346, 2011a.
- VAZ, J. A.; BARROS, L.; MARTINS, A.; SANTOS-BUELGA, C.; VASCONCELOS, M. H.; FERREIRA, I. C. F. R. Chemical composition of wild edible mushrooms and antioxidant properties of their water soluble polysaccharidic and ethanolic fractions. *Food Chemistry*, Reading, v. 126, n. 2, p. 610-616, 2011b.
- VIERA, V. B. *Obtenção do extrato de própolis assistida por micro-ondas, aplicação em linguiça toscana e avaliação da sua capacidade antioxidante*. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.
- VUORELA, S.; SALMINEN, H.; MAKELA, M.; KIVIKARI, R.; KARONEN, M.; HEINONEN, M. Effect of plant phenolics on protein and lipid oxidation in cooked pork meat patties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Davis, v. 53, n. 22, p. 8492-8497, 2005.
- WONG, J. Y.; CHYE, F. Y. Antioxidant properties of selected tropical wild edible mushrooms. *Journal of Food Composition and Analysis*, Paris, v. 22, n. 4, p. 269-277, 2009.
- YANISHLIEVA, N. V.; MARINOVA, E.; POKORNY, J. Natural antioxidants from herbs and spices. *European Journal of Lipid Science and Technology*, Malden, v. 108, n. 9, p. 776-793, 2006.

