UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS E NUTRIÇÃO

LAURA DE QUEIROZ BOMDESPACHO

DESENVOLVIMENTO DE UM PRODUTO TIPO "HAMBÚRGUER" À BASE DE CARNE DE FRANGO (*Gallus gallus*) E RESÍDUO DE SOJA, FERMENTADO COM *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014

ARARAQUARA-SP
2010

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS E NUTRIÇÃO

DESENVOLVIMENTO DE UM PRODUTO TIPO "HAMBÚRGUER" À BASE DE CARNE DE FRANGO (*Gallus gallus*) E RESÍDUO DE SOJA, FERMENTADO COM *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014

LAURA DE QUEIROZ BOMDESPACHO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Alimentos e Nutrição.

Orientador: Prof. Dr. Elizeu Antonio Rossi

ARARAQUARA-SP
2010

Ficha Catalográfica
Elaborada Pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP – Campus de Araraquara

Bomdespacho, Laura de Queiroz
B695d Desenvolvimento de um produto tipo "hambúrguer" à base de carne de frango (*Gallus gallus*) e resíduo de soja, fermentado com *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014 / Laura de Queiroz Bomdespacho. – Araraquara, 2010
105 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição
Orientador: Elizeu Antônio Rossi

1. Carne de frango. 2. Hambúrguer. 3. Okara. 4. Probióticos. 5. Conservação. I. Rossi, Elizeu Antônio, orient. II. Título.

CAPES: 50700006

BANCA EXAMINADORA

Profº. Dr. Elizeu Antonio Rossi
Faculdade de Ciências Farmacêuticas- Universidade Estadual Paulista " Júlio de Mesquita Filho"
ORIENTADOR

Profª. Dra. Daniela Cardoso Umbelino Cavallini
Faculdade de Ciências Farmacêuticas- Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"
MEMBRO

Profª. Dra. Raquel Bedani
Universidade de São Paulo - USP
MEMBRO

Profº. Dr. João Bosco Faria
Faculdade de Ciências Farmacêuticas- Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"
MEMBRO

Profª. Dra. Daniela Peres Miguel
Universidade Associadas de Uberaba - FAZU
MEMBRO

Com todo o meu amor
A meus pais,
Cida e Elson

As minhas irmãs Eleonora e Laurita,

Pelo seu grande apoio, compreensão

Às dezenas de meus amigos conquistados

Durante a minha estada em Araraquara

In memorian
Da bisa carinhosamente chamada de francha,
vovô Afonso e da dindinha

AGRADECIMENTOS

Ao Criador por me amparar e guiar nessa fase da vida.

À Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho– UNESP Araraquara e ao Curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos agradeço pela oportunidade da realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Elizeu Antônio Rossi, agradeço pela inestimável colaboração no desenvolvimento deste trabalho e pelos ensinamentos transmitidos ao longo desses anos.

Agradeço a professora Ana Dóris, pela atenção e uso dos moinhos do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica para o desenvolvimento da farinha de *okara*.

A todos os membros da banca examinadora Profª Dra. Daniela Cardoso Umbelino Cavallini, Dra. Raquel Bedani, Prof. Dr. João Bosco Faria, Profª. Dra. Daniela Peres Miguel, Profª. Dra. Célia Maria de Sylos.

A CAPES pela bolsa concedida.

Agradeço as laboratoristas Adriana e Roseli, por todo o auxílio dedicado durante a realização das analises laboratoriais, mas também a Mara e Lika pelas brincadeiras diárias.

À Roseli, agradeço pelos conselhos, ensinamentos espirituais, amizade, simpatia....

Andréia Iocca, não tem preço nossa amizade, incentivos, conselhos e o motivo pelo qual vim parar em Araraquara-SP. Obrigada por tudo.

Às meninas do laboratório Raquel, Marla, Verônica, Daniela Peres, Nadiége e Daniela Cavallini, pela amizade e auxilio na realização desse trabalho.

Aos bibliotecários, Máx, Irani, Rita, Moacir e Ana Cristina.

Aos colegas da pós-graduação e queridos amigos, incentivo, força e amizade: Paula Jorge e Talita Vieira, Mateus Petrarca, Lilian Moura, Gabriela Soldi (radja), Josiane Gaspar, Andréia Francisco, Ana Paula (coisa fofa), Ana Estela Rossato, Caio Aragon, Raquel Aizemberg, Delfina Manjate, Gustavo Fontanari, Flávia Santos, Paulo Henrique, Marlene, Ozeni Amorim, Daniele Maffei, Walison Silva, Michele Rota, Alessandra Ferrarezi, Maria Fernanda Falcone e Ederlan Ferreira.

Agradeço aos meus pais, Elson e Cida, por me darem o dom da vida, as minhas irmãs, Laurita e Eleonora, pelo grande afeto e companheirismo e por tudo que aprendemos juntas.

À minha família, agradeço pelo apoio, compreensão da minha ausência, estímulo, e por sempre estar ao meu lado em todos os momentos.

Aos amigos conquistados aqui em Araraquara, Laurene Callegari, Adriano Lama, Orlando Nilsen, Elizabeth Baptatista, Marcela Santos, Elias André, Neide Santos, Aracy Battagi, André, Fernando Soler e Nenrod Neto.

Aos meus porteiros do coração Wagner , Sr. Francisco e Sr. Padovani.

E finalmente, a todos que de alguma forma colaboraram para que este trabalho fosse desenvolvido.

BOMDESPACHO, L. B., Desenvolvimento de um produto tipo "hambúrguer" à base de carne de frango (*Gallus gallus*) e resíduo de soja, fermentado com *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014.

RESUMO GERAL

Okara é o resíduo do processo de produção do extrato hidrossolúvel de soja ou "leite de soja", cujo valor nutricional tem sido considerado por apresentar proteínas, lipídeos e fibras em quantidades significativas, além de compostos bioativos como as isoflavonas. As grandes quantidades de *okara* produzidas anualmente no Brasil e demais países geram um problema de eliminação e têm servido apenas para a alimentação de animais. Tal situação pode ser modificada por meio de estudos que demonstrem a viabilidade de sua utilização na alimentação humana. Nesse sentido, a proposta desse trabalho foi desenvolver um "hambúrguer" fermentado com cultivo probiótico, a base de carne de frango e que empregue em sua formulação a farinha de *okara*. A primeira etapa do projeto teve como objetivo testar a viabilidade da incorporação da farinha de *okara*. Foram processadas 5 formulações de "hambúrgueres" de frango variando as concentrações de farinha de *okara* entre 10-50%. Os resultados demonstraram que foi possível a elaboração de "hambúrguer" de frango, fermentado com *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014, adicionado de 10% de farinha de *okara*, apresentando características tecnológicas e sensoriais adequadas. O cultivo probiótico de *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014 foi capaz de se desenvolver satisfatoriamente no produto cárneo em estudo, na ausência de sais de cura. A segunda etapa do projeto teve como objetivo verificar o efeito da fermentação com *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014 nas características físico-químicas,

microbiológicas e sensoriais de um produto tipo hambúrguer à base de carne de frango e *okara*, com redução de sais de cura. Foram processados três tratamentos: F3 - 90% de carne de frango e 10% de *okara*, fermentado com *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014; F3A - 90% de carne de frango, 10% de *okara* e 75 mg de nitrito/kg, fermentado com *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014; F3B - 90% de carne de frango, 10% de *okara* e 150 mg de nitrito/kg, não fermentado. Com base nos resultados, o processo fermentativo foi capaz de inibir a multiplicação de microrganismos dos grupos estafilococos coagulase-positiva, clostrídios sulfito redutores, *Salmonella* spp. e *E. coli*. Os "hambúrgueres" apresentaram médias elevadas para todos os atributos sensoriais avaliados, sem diferirem significativamente entre si em relação à cor, ao aroma, ao sabor e à impressão global ($p>0,05$). Os resultados obtidos mostraram que a utilização de *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014 como cultura *starter* na produção de "hambúrguer" misto de carne de frango e *okara* é viável, pois permitiu a obtenção de um produto seguro, com características físico-químicas e sensoriais adequadas e livre de sais de cura.

PALAVRAS-CHAVE: Hambúrguer, carne de frango, *okara*, probióticos e conservação.

BOMDESPACHO, L. B. Development a product like "hamburger" meat chicken (*Gallus gallus*) and soybean residue, fermented with *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014.

ABSTRACT

Okara is the residue of the soy milk production process, whose nutritional value has been considered for presenting proteins, lipids and fiber in significant quantity, and bioactive compounds such as isoflavones. Despite of these qualities, the large quantities of okara produced annually in Brazil, as well as in other countries, create a disposal problem and have served only to feed animals. This situation can be changed by studies demonstrating the feasibility of its use in food for humans. For that reason, the purpose of this study is to develop a “burger” fermented with probiotic culture, having as a basis of its formulation chicken meat and okara flour. The first stage of the project aimed at testing the feasibility of incorporating the okara flour. There were 5 processed formulations of chicken “burgers”, varying the concentration of okara flour between 10-50%. The results showed that it was possible to prepare chicken “burger”, fermented with *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014, added with 10% okara flour, which presented adequate technological and sensory characteristics. The cultivation of probiotic *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014 was able to grow satisfactorily in the meat product in the absence of curing salts.

The second stage of the project aimed to investigate the effect of fermentation with *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014 in the physico-chemical, microbiological and sensory characteristics of a product like “hamburger” made of chicken meat and okara, with reduced use of curing salts. Three treatments were processed: F3 -

90% of chicken meat and 10% of okara fermented with *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014; F3A - 90% of chicken meat, 10% okara and 75 mg nitrite/kg, fermented with *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014; F3B - 90% of chicken meat, 10% okara nitrite and 150 mg/kg, unfermented. Based on the results, it can be concluded that the fermentation process was able to inhibit microorganisms growth of coagulase-positive groups, sulphite reducing clostridia, *Salmonella* spp. and *E. coli*. The "burgers" had high scores for all evaluated sensory attributes, without differing among themselves as to the color, aroma, taste and overall impression ($p > 0.05$). The results showed that there is a feasible use of *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014, as starter culture, in the production of a burger mix of chicken and okara, given that it allowed the obtainment of a safe product with adequate physico-chemical and sensory characteristics, in addition to being free from curing salts.
KEYWORDS: Hamburgers, chicken, *okara*, probiotics and conservation.

SUMÁRIO

Página

RESUMO GERAL..... 06

ABSTRACT..... 08

SUMÁRIO..... 10

LISTA DE FIGURAS..... 14

LISTA DE TABELAS..... 15

Capítulo 1 Revisão de bibliográfica..... 16

1 INTRODUÇÃO..... 17

1.1 Carne de frango..... 18

1.2 Soja..... 20

1.2.1 *Okara*..... 22

1.3 Hambúrgueres..... 25

1.3.1 Nitrito e nitrato em produtos cárneos..... 28

1.3.2 Bactérias láticas em produtos cárneos..... 31

2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 35

Capítulo 2 O emprego de resíduo de soja no processamento de "hambúrguer" de frango fermentado com *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014..... 43

RESUMO..... 44

ABSTRACT..... 46

1 INTRODUÇÃO..... 47

2 MATERIAL E MÉTODOS..... 49

2.1 Material..... 49

2.2 Métodos..... 50

2.2.1 Preparo dos materiais..... 50

2.2.1.1 Carne de frango..... 50

2.2.1.2 Manutenção de cultura lática..... 50

2.2.1.3 Obtenção da farinha de *okara*..... 51

2.2.1.4 Processamento..... 51

2.2.2 Análises..... 53

2.2.2.1 Rendimento na cocção e porcentagem de encolhimento..... 53

2.2.2.2 Determinação de pH..... 54

2.2.2.3 Avaliação sensorial..... 54

2.2.2.4 Análise estatística..... 55

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 56

3.1 Análises físico-químicas..... 56

3.1.1 Avaliação de pH..... 56

3.1.2 Rendimento de cocção e porcentagem de encolhimento..... 59

3.2 Avaliação sensorial..... 61

4 CONCLUSÕES..... 66

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 66

Capítulo 3 Substituição de sais de cura pelo processo fermentativo em "hambúrguer" misto de carne de frango e *okara*..... 70

RESUMO..... 71

ABSTRACT..... 73

1 INTRODUÇÃO..... 74

2 MATÉRIAL E MÉTODOS..... 76

2.1 Material..... 76

2.1.1 Manutenção das culturas láticas e preparo do inóculo..... 77

2.1.2 Preparo da farinha de *okara*..... 77

2.1.3 Processamento dos "hambúrgueres"..... 78

2.2 Métodos..... 82

2.2.1 Análises físico-químicas..... 82

2.2.1.1 Rendimento na cocção e porcentagem de encolhimento..... 82

2.2.1.2 Determinação de pH..... 82

2.2.2 Composição centesimal..... 83

2.2.3 Análise microbiológica 83

2.2.4 Análise sensorial..... 85

2.2.4.1 Teste de aceitação e intenção de compra..... 85

2.2.5 Análise estatística..... 86

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 86

3.1 Análises físico-químicas..... 86

3.1.1 Rendimento de cocção e encolhimento..... 86

3.1.2 Medida de pH..... 88

3.2 Composição química..... 89

3.3 Avaliações microbiológicas..... 91

3.4 Análise sensorial..... 95

3.4.1 Aceitação dos diferentes produtos..... 95

3.4.2 Atitude de compra..... 99

4 CONCLUSÃO..... 100

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 100

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 2 O EMPREGO DE RESÍDUO DE SOJA NO PROCESSAMENTO DE "HAMBÚRGUER" DE FRANGO FERMENTADO COM *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014

Figura 1 Valores de pH para "hambúrgueres" com cultura *starter* (*Lactobacillus acidophilus* CRL 1014) em diferentes níveis e sem adição de farinha de *okara* durante cinco dias de fabricação..... 58

Figura 2 Representação gráfica dos resultados do teste de aceitação em relação à atitude de compra..... 64

Capítulo 3 SUBSTITUIÇÃO DE SAIS DE CURA PELO PROCESSO FERMENTATIVO EM "HAMBÚRGUER" MISTO DE CARNE DE FRANGO E *OKARA*

Figura 1 Fluxograma geral do processamento dos "hambúrgueres" de frango e *okara*..... 81

Figura 2 Preparo dos "hambúrgueres" para as análises físicas e sensoriais..... 82

Figura 3 Variação nos valores de pH durante a fermentação dos "hambúrgueres" com *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014..... 89

Figura 4 Intenção de compra em relação aos diferentes "hambúrgueres"..... 99

LISTA DE TABELAS

Capítulo 2 O EMPREGO DE RESÍDUO DE SOJA NO PROCESSAMENTO DE "HAMBÚRGUER" DE FRANGO FERMENTADO COM *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014

Tabela 1 Formulação dos "hambúrgueres" à base de carne de frango e farinha de *okara*..... 51

Tabela 2 Valores médios (%) referentes ao rendimento e encolhimento após a cocção dos "hambúrgueres"..... 59

Tabela 3 Médias dos atributos sensoriais dos diferentes "hambúrgueres" processados..... 61

Capítulo 3 SUBSTITUIÇÃO DE SAIS DE CURA PELO PROCESSO FERMENTATIVO EM "HAMBÚRGUER" MISTO DE CARNE DE FRANGO E *OKARA*

Tabela 1 Matérias-primas e ingredientes utilizados na preparação dos "hambúrgueres"..... 79

Tabela 2 Valores médios (%) referentes ao rendimento e encolhimentos após a cocção dos "hambúrgueres"..... 87

Tabela 3 Composição centesimal dos diferentes tratamentos de "hambúrgueres" crus..... 90

Tabela 4 Caracterização microbiológica dos diferentes tratamentos de "hambúrgueres" crus..... 93

Tabela 5 Médias dos atributos sensoriais avaliados pela equipe de julgadores..... 96

CAPÍTULO 1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1 INTRODUÇÃO

Atualmente os tecnólogos de alimentos têm enfrentado o desafio de produzir alimentos cada vez mais saudáveis, utilizando o mínimo possível de aditivos alimentares. Nesse sentido, a busca por processos que garantem a qualidade do alimento e dispensam a utilização dessas substâncias tem despertado o interesse da indústria.

A fermentação, além de conferir características físicas e sensoriais bastante peculiares às matérias-primas, vem sendo utilizada como uma forma de aumentar a vida útil dos produtos, permitindo, muitas vezes, a redução das concentrações de agentes de conservação normalmente utilizados pela indústria.

No caso particular dos produtos cárneos, no Brasil, ao contrário de alguns países europeus, os fermentados são bastante escassos, o que torna de fundamental importância o desenvolvimento desse tipo de produto adaptado ao paladar do consumidor brasileiro.

Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi de desenvolver um produto do tipo hambúrguer, utilizando a carne de frango associada ao "*okara*" (sub-produto do processamento do extrato hidrossolúvel de soja (leite de soja), fermentado com uma cepa probiótica de *Lactobacillus acidophilus.*

O presente capítulo visa apresentar uma revisão da literatura, abordando aspectos que fundamentam o estudo em questão, tais como processamento de hambúrgueres, principais constituintes empregados no processamento e utilização de bactérias láticas em produtos cárneos fermentados.

1.1 Carne de frango

O Brasil atingiu a segunda posição na produção mundial de carne de frango, com uma produção total de 5,3 milhões de toneladas somente no primeiro semestre de 2008. Historicamente, dois terços dessa produção são destinados ao mercado interno, onde o consumo *per capita* chega a quase 38 quilos por ano. Calcula-se que 68% são destinados ao consumo interno e 32% são exportados, sendo que 56% são em forma de cortes variados, 35,5% de cortes inteiros e somente 4,73% na forma industrializada.[4]

Ao longo dos últimos anos, o consumo de carne de aves se tornou muito popular devido a sua característica nutricional e ao baixo custo. A carne de frango fornece alta quantidade protéica (cerca de 20 g/100 g carne crua, sem pele) e baixo teor de gordura (cerca de 5 g/100 g carne crua sem pele). Além disso, os lipídeos do frango possuem elevados níveis de ácidos graxos insaturados (especialmente polinsaturados), os quais são considerados como um aspecto positivo e saudável aos consumidores.[10]

Os principais ácidos graxos polinsaturados presentes na carne frango são eicosapentaenóico (C20:5) e docosahexaenóico (C22:6), denominados de ômega –3.[23]

A carne de frango é amplamente utilizada na alimentação, sendo classificada como produto saudável, pobre em gorduras saturadas, desde que seja consumida sem pele. O filé de peito é o pedaço mais magro, tem sido empregado na industrialização de diversos produtos em combinação com a carne da coxa, na proporção de 70:30.[5,10] Cada 100 g de peito de frango sem pele fornecem 25 g de proteínas: 3,75 g lipídeos; 1,61 g de ferro; 1,10 g de cinzas e 100 kcal.[62]

Pela composição química apresentada, ela é recomendada para todas as idades, podendo ser consumida, sem pele, por indivíduos que apresentam riscos de doenças cardiovasculares, por apresentar uma baixa taxa de colesterol. Além disso, a carne de aves constitui uma fonte importante de proteínas de boa qualidade, além de ser rica em selênio, cálcio, ferro e vitaminas do complexo B, principalmente B2 e B12.[67]

Robertson et al.,[49] relacionaram o consumo de gordura, fibras e carne com os riscos de adenomas. Eles verificaram que o maior consumo de carne de frango estava associado com a redução na formação de adenoma, ao contrário do que foi observado com a ingestão de carnes vermelhas processadas e ricas em gorduras.

Sinha et al.,[59] realizaram um estudo prospectivo com meio milhão de pessoas com idade entre 50 e 71 anos e que consumiam carnes e produtos cárneos, procurando estabelecer uma correlação com o índice de mortalidade por meio de um questionário alimentar. Os autores concluíram que o consumo da carne vermelha processada foi associado com o aumento modesto na mortalidade em decorrência do aparecimento de determinados tipos de cânceres e de doenças cardiovasculares. A carne de frango mostrou estar associada a um efeito inverso ao observado para os demais tipos de carnes.

Apesar das evidências relativas aos efeitos benéficos a saúde, a produção de alimentos industrializados com carne de frango ainda é pequena frente aos demais tipos de carnes (bovina e suína), indicando necessidade de se aumentar a oferta desse tipo de produto, uma vez que o consumidor está cada vez mais interessado em incorporar hábitos mais saudáveis em seu estilo de vida.[33,34,5]

1.2 Soja

A soja (*Glycine max*), uma leguminosa originária do leste da Ásia, é tida como alimento vegetal que apresenta em sua composição, elevada quantidade de proteína e de fibras, oligossacarídeos com potencial prebiótico, como rafinose e estaquinose, além de vitaminas, minerais e componentes bioativos como por exemplo as isoflavonas.[17]

Por ser considerada um alimento funcional, a soja vem sendo muito estudada em razão de seu potencial na redução do risco de doenças crônico-degenerativas.[28] É muito utilizada em terapias de reposição hormonal para mulheres na menopausa, como agente redutor do nível de colesterol e na redução do risco da osteoporose.[28,51,21] Segundo Rossi et al.[50] têm sido grande o número de publicações associando o consumo de soja à redução do risco de câncer, principalmente o de mama, ovário e próstata.

As isoflavonas da soja quando associadas a determinados microrganismos, probióticos ou não, podem ser melhores absorvidas pelo organismo em consequência de uma capacidade desses microrganismos em transformar formas glicosídicas em agliconas.[1]

A disseminação de informações a respeito dos benefícios da soja em relação à saúde tem provocado um aumento no consumo dos produtos derivados, principalmente após a autorização de uso da "alegação de saúde", dada pelo FDA em outubro de 1999, para produtos que contenham 25 g de proteína de soja por porção. A "alegação" permitida diz que esses produtos são capazes de auxiliar na redução do risco de doenças cardiovasculares quando associada a uma alimentação equilibrada e com hábitos de vida saudáveis.[70] No Brasil, essa mesma alegação foi autorizada pela ANVISA em 2008.[9]

A soja é um grão versátil que dá origem a diversos produtos e subprodutos, tendo como alguns exemplos o *tofu* ("queijo de soja"), isolados protéicos, farinhas

e farelos, extrato hidrossolúvel de soja e o sub-produto do extrato hidrossolúvel de soja, denominado *okara* ou resíduo de soja.[11]

Durante a produção do extrato hidrossolúvel de soja é gerada uma quantidade considerável de resíduo (*okara*). Estima-se que para cada quilo de soja *in natura* sejam gerados 1,1 kg de *okara* fresco.[13,42]

1.2.1 *Okara*

Okara, é uma palavra japonesa que significa "pasta de soja" e é considerado como um sub-produto, apresentando um baixo valor de mercado porque consiste de aproximadamente 80% de água, tornando-se volumoso, difícil de manipular e altamente susceptível à deterioração microbiana.[46]

Do ponto de vista nutricional, o *okara* torna-se um produto de interesse, pois além de fibras e lipídeos, contém aproximadamente 27% de proteínas (base seca), o que o torna uma fonte de proteína vegetal de baixo custo, capaz de fornecer os nove aminoácidos essenciais ao organismo humano, podendo ser utilizado também como ingrediente em uma variedade de alimentos processados. Além disso, cerca de 1/3 das isoflavonas normalmente presentes na soja ficam retidas no *okara.*[42,36]

O *okara*, por conter uma alta concentração de fibras, tem sido considerado como um ingrediente que pode auxiliar na redução dos níveis de colesterol em

indivíduos hipercolesterolêmicos, uma vez que as fibras contribuem para a não absorção do colesterol proveniente da alimentação. Alguns estudos têm mostrado que as fibras podem também auxiliar no controle do diabetes.[27] A fibra dietética apresenta potencial prebiótico, isto é, é capaz de afetar beneficamente a multiplicação e a atividade da microbiota intestinal, particularmente dos gêneros *Bifidobacterium* spp *e Lactobacillus* spp*,* que desempenham um importante papel na defesa contra patógenos.[3]

Grandes quantidades de *okara* são geradas em todo o mundo em decorrência da produção "leite" de soja e do *tofu,*[57] ocasionando um problema ambiental, pois ainda não se têm mecanismos que utilizem *okara* como ingrediente alimentar em diferentes produtos com potencial benéfico à saúde. Comumente esse sub-produto tem recebido um destino pouco nobre: tem sido utilizado como alimento para animais, ou, como no Japão, tem sido queimado se constituindo em agente de poluição ambiental, ou ainda, como em Hong Kong, tem sido depositado em aterros sanitários.[42] Entretanto, estudos recentes têm demonstrado que o *okara* auxilia na redução do risco de determinadas doenças, como relatado por Matsumoto et al.,[36] que avaliaram em ratos o seu efeito na prevenção da obesidade. Os autores verificaram que o *okara* impediu o aumento do peso corporal e do tecido adiposo branco e preveniu um aumento de lipídeos no plasma, incluindo o colesterol total, colesterol LDL e ácidos graxos não esterificados.

Assim, para encontrar formas de utilização do *okara* como ingrediente alimentar em diferentes produtos com potencial benéfico à saúde, várias tentativas vêm sendo feitas. Waliszewski et al.,[68] estudaram o efeito da suplementação de tortilhas de milho com *okara* e demonstraram a viabilidade do emprego desse resíduo na concentração de 10% sem alterar as propriedades físicas, químicas e sensoriais do produto.

Santos et al.,[55] estudaram sua utilização em um cereal matinal com diferentes concentrações em substituição à aveia (25%, 50%, 75% e 100%). Com base nos resultados obtidos na composição centesimal, os autores sugerem que a amostra contendo 100% de resíduo de soja pode ser uma boa fonte de fibras e de proteína vegetal.

Silva et al.,[58] avaliaram a composição química e o valor protéico do resíduo de soja em ratos machos *Wistar*. Eles concluíram que a proteína do *okara* apresenta qualidade nutricional equivalente à proteína do grão de soja integral. A proteína do resíduo de soja apresenta um perfil de aminoácidos adequado, capaz de suprir as necessidades protéicas de crianças em idade pré-escolar. É também indicado na formulação de alimentos visando ao aumento do valor nutricional, bem como de possível redução nos custos de produção em relação ao produto tradicional.

Vários outros estudos têm demonstrado a utilização, com vantagens, da farinha de *okara* em diferentes produtos cárneos, principalmente do tipo

hambúrgueres.[64,6,63] Contudo, mais estudos ainda se fazem necessários visando demonstrar a real viabilidade de utilização do *okara* na indústria de alimentos, principalmente dos funcionais.

1.3 Hambúrgueres

Nascimento et al.,[39] relatam que o hambúrguer teve origem na Alemanha, na cidade de Hamburgo, sendo degustado cru. Em 1889 apareceu nas mesas de um restaurante em Washington e, a partir da década de 20, proliferou-se nos Estados Unidos de tal forma, que não se pensa no estilo de vida norte-americano sem ele. Chegou ao Brasil nos anos 50 e se tornou um alimento popular depois que a primeira rede de *fast food* começou a produzi-lo em larga escala.

Segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Hambúrguer do Ministério da Agricultura e Abastecimento, entende-se como um produto cárneo industrializado que, obrigatoriamente, deve ser obtido de carne moída de diferentes animais de açougue com adição ou não de tecido adiposo e ingredientes, moldado e submetido a um processo tecnológico adequado. Trata-se de um produto que pode ser produzido cru, semi frito, cozido, frito, congelado ou resfriado.[7]

Alguns ingredientes podem ser acrescentados na formulação do hambúrguer, tais como água, sal, gorduras e proteínas animais e/ou vegetais, leite

em pó, açúcares, maltodextrina, aditivos intencionais, condimentos, aromas e especiarias, além de vegetais e queijos.[7]

Os hambúrgueres devem atender aos seguintes requisitos físico-químicos: gordura (máxima) 23,0%; proteína (mínima) 15,0%; carboidratos totais 3,0%; teor de cálcio (máximo base seca) 0,1% em produto cru e 0,45% em produto cozido. Dessa forma, essas exigências proporcionam características sensoriais próprias do hambúrguer que envolvem textura, cor, sabor e odor específicos do alimento.[7]

Ademais, o hambúrguer pode ser adicionado de proteína de soja hidratada, 1% de sal, 0,2% de glutamato monossódico e especiarias.[43] Porém, de acordo com os requisitos de composição do Ministério da Agricultura e Abastecimento, só é permitida a adição máxima de 4,0% de proteína não cárnica na forma agregada.[7]

Das et al.,[15] desenvolveram uma técnica de processamento da pasta de soja com baixo teor de gordura. Eles avaliaram o potencial de aplicação dessa pasta em “hambúrgueres” de carne de cabra. O produto resultante foi mais macio e suculento e muito aceitável.

Em um outro estudo realizado por Das et al.,[16] ficou demonstrado que a pasta de soja integral (com gordura) pode ser empregada com sucesso em concentrações de até 15% no processamento de “hambúrgueres” de carne de

caprinos. Os produtos apresentaram mais sabor, suculência e aceitação global em relação ao controle (sem adição da pasta).

A proteína da soja que representa uma fonte econômica de proteínas alimentares e têm sido amplamente utilizada em produtos cárneos como um agente geleificante, emulsificante e ligante, sendo capaz de melhorar a estabilidade e o rendimento do produto.[48]

Embora a proteína de soja possa desempenhar muitas funções tecnológicas no sistema alimentar em que é incorporada, ela é mais conhecida como emulsificante e geleificante.[66] O uso de proteínas de soja na alimentação tem despertado grande interesse dos pesquisadores, como uma forma de melhorar as propriedades tecnológicas e sensoriais dos produtos, além de reduzir seus custos.[18,19]

Brannan[6] analisou o efeito do uso de farinha de soja e aveia em produtos cárneos do tipo almôndegas e *nuggets* de frango cozidos e observou uma maior firmeza nesses produtos em decorrência de uma maior retenção de água e de uma provável interação desses constituintes com o amido da farinha de rosca normalmente utilizada no processo.

Turhan et al.,[64] estudando o emprego de *okara* integral em “hambúrgueres” de carne bovina com baixo teor de gordura verificaram uma melhora no rendimento de cocção e na qualidade sensorial dos “hambúrgueres” quando

comparados com o produto sem adição do *okara* (controle). Concluíram que o *okara* integral pode ser utilizado até a concentração de 22,5% e que o produto resultante apresenta uma redução significativa no conteúdo de colesterol.

Em outro estudo, esses mesmos autores avaliaram a utilização de farinha de *okara* em quatro concentrações diferentes (2,5; 5,0; 7,5 e 10%), as quais foram incorporadas no processamento de "hambúrgueres" de carne bovina. Os resultados indicaram que a farinha de *okara* afetou alguns parâmetros físico-químicos e sensoriais de qualidade dos "hambúrgueres", embora os teores de proteína, gordura, cinzas e carboidratos tenham aumentado. Por outro lado, a adição do *okara* modificou as propriedades sensoriais, evidenciando que concentrações superiores a 7,5% determinaram uma redução significativa nos valores de aceitação dos produtos.[63]

1.3.1 Nitrito e nitrato em produtos cárneos

Os produtos cárneos curados são elaborados com sais compostos pela mistura de nitrato de sódio ($NaNO_3$) e nitrito de sódio ($NaNO_2$), visando garantir a segurança microbiológica desses produtos.[44]

A carne foi historicamente preservada pelo uso do sal em função do efeito inibitório à contaminação bacteriana e desidratação osmótica na superfície. O sal era aplicado sobre a carne e a prática era chamada de cura seca. No final do século XIX, cientistas descobriram que as bactérias redutoras do nitrato geravam

um íon nitrito que era o composto ativado em reações de cura. Entretanto, o nitrato só é utilizado para alguns processos de cura seca, ou prolongada. Atualmente, o nitrito de sódio (ou de potássio) é o principal ingrediente de cura utilizado.[54]

As funções importantes do nitrito incluem o melhoramento das características organolépticas, bem como o desenvolvimento do *flavor* característico do produto curado e a estabilização da cor.[31]

O nitrito funciona como um quelante de metal podendo formar compostos nitrosos que possuem atividade antioxidante.[31] Além das referidas reações do nitrito na cor dos produtos curados, outro efeito desejável é o mecanismo de inibição para com alguns microrganismos deteriorantes e patogênicos. Essa ação envolve o bloqueio de sítios sulfidrílicos dentro da célula bacteriana, sendo que se verifica uma eficiência maior com a queda do pH. Porém, o nitrito não é efetivo contra todas as classes e gêneros de microrganismos, mostrando-se ineficaz, por exemplo, contra a família *Enterobacteriaceae* que inclui a *Salmonella* spp.[24]

O nitrito atua também como agente bacteriostático e bactericida principalmente em relação ao estafilococos coagulase positiva, *Clostridium perfringens,*[24] e provoca a inibição do *Clostridium botulinum* e da *Listeria monocytogenes.*[61]

Para Tompkin,[61] esse mecanismo está relacionado com a inativação de enzimas envolvidas no metabolismo respiratório e, consequentemente, com a interferência na produção de ATP, além de combinar com várias enzimas ferrosulfuradas, inibindo outros processos metabólicos nas células, especialmente a captação de substrato para síntese de macromoléculas.

Na preservação dos alimentos, o uso do nitrito apresenta um paradoxo. De um lado, ele é um conservante que tem sido empregado há séculos, essencial para a segurança microbiológica; por outro lado, o nitrito é suspeito de promover carcinogênese.[14]

Alguns autores relatam que derivados de carne fabricados no Brasil apresentam, na maioria das vezes, níveis de nitrito e nitrato acima do permitido pela legislação.[37,41,2] Portanto, tendo em vista os riscos associados ao emprego indiscriminado desses aditivos, sua utilização deve ser muito bem controlada e inspecionada.[37]

É importante ter controle na quantidade de sais de cura utilizados na mistura com a carne, pois, em certas situações o nitrito residual pode agregar-se às aminas secundárias e originar as nitrosaminas. Estas são, *in vitro,* potencialmente carcinogênicas, visto que geram o cátion nitrênio que, ao reagir com o DNA, provoca mutações.[61] Entretanto, a adição de nitrito e nitrato em alimentos é oficialmente regulamentada na maioria dos países, inclusive no Brasil, onde se permite um limite máximo de 150 e 300 mg/kg, respectivamente.[8] Nos

Estados Unidos, segundo o USDA, [65] a adição máxima permitida para o nitrito é de 156 mg/kg em embutidos. Mas, mesmo tratando-se de uma prática oficialmente permitida, torna-se importante criar alternativas de conservação que minimizem ou excluam o seu emprego nos alimentos.

Uma das alternativas propostas para impedir a formação de nitrosaminas em produtos cárneos é a utilização de bactérias láticas.[56] Nos últimos anos, vários estudos têm sido realizados com essas bactérias em diferentes tipos de produtos cárneos fermentados.[47,45,30]

1.3.2 Bactérias láticas em produtos cárneos

O uso de culturas iniciadoras na elaboração de produtos cárneos é uma prática comum na indústria alimentícia estando relacionada às características de *flavor*, textura e com a vida útil do produto final.

As bactérias mais utilizadas para a fermentação de produtos cárneos embutidos são as bactérias láticas. O ácido lático formado por essas bactérias confere a esses produtos sabor e aroma ácidos característicos e também estende suas vidas de prateleira, por inibir a multiplicação de microrganismos deteriorantes.[69]

As culturas *starters* são preparações de microrganismos vivos, normalmente de bactérias láticas, que desenvolvem uma atividade metabólica

desejável na carne. Os cultivos usados em produtos cárneos curados consistem, quase sempre, de microrganismos tipicamente acidificantes como *Lactobacillus* spp ou *Pediococcus* spp.[12] Quando empregados, aceleram o processo de fermentação e de produção do sabor e textura, além de permitir a redução do nitrato a nitrito. O seu uso ajuda a melhorar a estabilidade da cor, acidifica o meio e produz um aroma desejável, promovendo, assim, a otimização do processo devido, principalmente, aos seguintes fatores: 1) redução do pH inicial de 5,1 para 4,5; 2) favorecimento da fatiabilidade[35]; 3) redução do teor de nitrito residual.[56]

Além de inibir o crescimento de patogénos nos alimentos fermentados, acredita-se que as bactérias láticas proporcionem efeitos benéficos à saúde.[20]

As bactérias probióticas, particularmente os lactobacilos e as bifidobactérias, são utilizadas como coadjuvantes em alimentos, pois propiciam uma ampla variedade de benefícios à saúde. Elas colonizam o intestino, por exclusão competitiva, e impedem a multiplicação de bactérias nocivas pela produção de ácidos orgânicos e compostos antimicrobianos.[38,53,25,22] Outras funções probióticas têm sido atribuídas à capacidade de reduzirem o risco de doenças crônico-degenerativas tais como doenças coronarianas e diversos tipos de câncer.[26,40,32,51]

Rossi et al.,[52] estudaram 18 cepas de *Enterococcus faecium* e *Lactobacillus acidophilus* quanto à capacidade de remoção do colesterol do meio de cultura em presença de sais biliares. A maior remoção do colesterol foi obtida pelo *Enterococcus faecium* CRL 183 e *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014.

Portanto, as bactérias probióticas podem afetar beneficamente a saúde do indivíduo se ingeridas em quantidades suficientes.[25,60] Para receber a nomenclatura de probiótico a legislação brasileira define que o um produto deve conter a concentração mínima entre 10^8 a 10^9 UFC na porção diária do alimento para ser de importância fisiológica para o consumidor.[9] Esses microrganismos, dentre eles o *Lactobacillus acidophilus,* têm sido empregados na maioria das vezes em derivados lácteos não sendo comuns em produtos cárneos.[29,20]

Para que as culturas probióticas desempenhem o papel esperado elas precisam ser ingeridas na forma viável e serem resistentes ao pH do estômago e aos efeitos de inibição dos sais biliares,[29] condições que possivelmente não podem ser observadas num produto do tipo hambúrguer que só é consumido após um processo de cocção.

Entretanto, é importante se considerar a possibilidade da produção de metabólitos como bacteriocinas, diacetil, peróxido de hidrogênio, ácido acético, ácido lático produzido por bactérias probióticas durante o processo de fermentação de produtos cárneos, os quais poderiam exercer efeitos benéficos à saúde do consumidor, mesmo após terem sofrido algum tipo de tratamento térmico.

Diante do exposto, faz-se necessário conhecer melhor a ação do *Lactobacillus acidophilus* no processo fermentativo de produtos cárneos, não só

quanto aos aspectos de estabilidade, segurança microbiológica e qualidade sensorial dos produtos, mas também, quanto a eventuais benefícios à saúde decorrentes da presença de metabólitos gerados pelo processo fermentativo.

2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALIA, A. A. et al. Modulation of carbohydrate metabolism and peptide hormones by soybean isoflavones and probiotics in obesity and diabetes**. J. Nutr. Biochem.**, v.16, p.693–699, 2005.

2. AMIN, M.; OLIVEIRA, J. V. Efeito do uso do nitrato e nitrito na inibição de *Clostridium perfringens* tipo A em lingüiça bovina curada. **Bol. Centro Pesq. Process. Alim.** , v. 24, n.1, p. 13-24, 2006.

3. APARICIO, M.; CUENCA, A. R.; SUÁREZ, V. M. J. Isolation and characterization of cell wall polysaccharides from legume by-products: *Okara* (soymilk residue), pea pod and broad bean pod I. **Food Chem.**, v.122, p.339–345, 2010.

4. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PRODUTORES E EXPORTADORES DE FRANGO - ABEF. 36p. (Relatório Anual 2007/2008). Disponível em: < www.abef.com.br>. Acesso em: 01 jul 2008.

5. BIANCHI, M. et al. The influence of dietary lipid source on quality characteristics of raw and processed chicken meat. **Eur. Food Res. Technol.,** v. 229, p.339–348, 2009.

6. BRANNAN, R. G. Analysis of texture of boneless, fully fried breaded chicken patties as affected by processing factors. **J. Food Quality,** v. 31, p. 216–231, 2008.

7. BRASIL. Ministério da Agricultura, Agropecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 20. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Hambúrguer, **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 3 ago. 2000.

8. BRASIL. Ministério da Agricultura de Agropecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 20. Métodos Analíticos para Controle de Produtos Cárneos e seus Ingredientes - Métodos Físico-Químicos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 09 set. 1999.

9. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos com alegação de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos, ingredientes, substâncias bioativas e probióticos. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm. Acesso em: 21 ago 2010. (Atualizado em agosto/2007. Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas).

10. BONOLI, M. et al. Effect of feeding fat sources on the quality and composition of lipids of precooked ready-to-eat fried chicken patties. **Food Chem.**, v. 101, p. 1327-1337, 2007.

11. BOWLES, S. **Utilização do subproduto da obtenção de extrato aquoso de soja *okara* em pães do tipo francês**. 2005. 82f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2005.

12. CASABURI, A. et al. Technological activities of *Staphylococcus carnosus* and *Staphylococcus simulans* strains isolated from fermented sausages. **Meat Sci.**, v. 71, p. 643-650, 2005.

13. CHAN, W. M.; MA, C. Y. Modification of proteins from soymilk residue (*Okara*) by Trypsin. **Food Res. Int**., v. 32, p. 119-127, 1999.

14. COULTATE, T. P. Conservantes. **Alimentos:** a química de seus componentes. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 251-265.

15. DAS, A. K.; ANJANEYULU, A. S. R.; KONDAIAH, N. Development of reduced beany flavor full-fat soy paste for comminuted**.** Meat Prod., v. 71, n. 5, **J. Food Sci**., p. S395-S400, 2006.

16. DAS, A. K. et al. Full-fat soy paste on quality of goat meat patties. **Food Sci. Technol.**, v. 44, n. 3, p.323-326, 2007.

17. DE ANGELIS, R. C. **Fome oculta**: bases fisiológicas para reduzir seu risco. São Paulo: Atheneu, p. 07-64, 1999.

18. DIFTIS, N.; KIOSSEOGLOU, V. Competitive adsorption between a dry-heated soy protein-dextran mixture and surface-active materials in oil-in-water emulsions. **Food Hydrocolloids**, v.18, p.639–646, 2004.

19. DIFTIS, N. G.; BILIADERIS, C.G.; KIOSSEOGLOU, V. D. Rheological properties and stability of model salad dressing emulsions prepared with a dry-heated soybean protein isolate-dextran mixture. **Food Hydrocolloids**, v.19, p.1025–1031, 2005.

20. DOUGLAS, L. C.; SANDERS, M. E. Probiotics and prebiotics in dietetics practice. **J. Amer. Dietetic Assoc**., v. 108, n. 3, p. 510-520, 2008.

21. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. A soja. Disponível em: <http://www.cnpso.embrapa.br/index.php?oppage=22&codpai=16>. Acesso em: 16 abr. 2008.

22. ERKKILA, S.; PETAJA, E. Screening of commercial meat starter cultures at low pH and in the presence of bile salts for potential probiotic use. **Meat Sci**., v. 55, p. 297–300, 2000.

23. FERIOLI, F.; CABONI, M. F. Composition of phospholipid fraction in raw chicken meat and pre-cooked chicken patties: influence of feeding fat sources and processing technology. **Eur. Food Res. Technol**., n.231, p.117–126, 2010.

24. FRANCO, B. D. G. M. F.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996.

25. FULLER, R. Probiotics in man and animais. **J. Applied Bacteriol.**, v. 66, p. 365-376, 1998.

26. FULLER, R. **Probiotics**: the scientific basis. New York, NY: Chapman & Hall, 1992.

27. GRAY, J. Dietary fibre. Definition, Analysis, Physiology and Health. ILSI Europe Concise Monograph Series. Brussels: ILSI. 2006.

28. HASLER, C. M. Functional foods: their role in disease prevention and health promotion. **Food Technol**., v. 57, p. 57-62, 2001.

29. HOLCOMB, J. E.; FRANK, J. F. Viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* in soft serve frozen yogurt. **Cult. Dairy Prod. J**., v. 29, n. 3, p. 4-5, 1991.

30. KLINGBERG, T. D. et al. Identification of potential probiotic starter cultures for Scandinavian-type fermented sausages. **Int. J. Food Microbiol**., v. 105, p. 419-431, 2005.

31. JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711p.

32. JAHREIS, G. et al. Influence of probiotic sausage (*Lactobacillus paracasei*) on blood lipids and immunological parameters of health volunteers. **Food Res. Int**., v. 35, p. 133–138, 2002.

33. LEROY, F.; DE VUYST, L. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. **Trends Food Sci. Technol**., v. 15, n. 2, p. 67-78, 2004.

34. LIMA, J. X.; OLIVEIRA, L. F. O crescimento do restaurante *self service*: aspectos positivos e negativos para o consumidor. **Rev. Hig. Alim**., v. 19, p. 45-53, 2005.

35. LÜCKE, F. K. Utilization of microbes to process and preserve meat. **Meat Sci**., v. 56, p. 105-115, 2000.

36. MATSUMOTO, K.; WATANABE, Y.; YOKOYAMA, S. *Okara*, soybean residue, prevents obesity in a diet-induced Murine obesity model. **Biosci. Biotechnol. Biochem**., v. 71, p. 720-727, 2007.

37. MELO FILHO, A. B.; BISCONTINI, T. M. B.; ANDRADE, S. A. C. Níveis de nitrito e nitrato em salsichas comercializadas na região metropolitana do Recife. **Cienc. Tecnol. Alim**., v. 24, n. 3, p. 390-392, 2004.

38. MOGENSEN, G. **Realities and trends in probiotic attributes of lactic acid Bacteria and their market impact**. In: Lactic acid bacteria. Lactic Caen: Presses Universitaires de Caen, 1995. v. 97, p. 175–185.

39. NASCIMENTO, M. G. F.; OLIVEIRA, C. Z. F.; NASCIMENTO, E. R. Hambúrguer: evolução comercial e padrões microbiológicos. **Bol. Centro Pesq. Process. Alim.**, v. 23, n. 1, p. 59-79, 2005.

40. O'BRIEN, J. et al. Safety evaluation of probiotics. **Trends Food Sci. Technol**., v. 10, p. 418–424, 1999.

41. OLIVEIRA, M. J.; ARAUJO, W. M. C.; BORGO, L. A. Quantificação de nitrato e nitrito em lingüiças do tipo frescal. **Ciênc. Tecnol. Alim**., v. 25, n. 4, p. 736-742, 2005.

42. O'TOOLE, D. K. Characteristics and use of *okara*, the soybean residue from soy milk production - review. **J. Agric. Food Chem**., v. 47, p. 363-371, 1999.

43. PARDI, M. C. et al. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. Tecnologia da carne e subprodutos. Processo Tecnológico. Goiânia: UFG/EDUFF, 1994. v. 2, 1110 p.

44. PEGG, R. B.; SHAHIDI, F. Nitrite curing of meat. The n-nitrosamine problem and nitrite alternatives, Trumbull, CT: USA, 2000.

45. PENNACHIA, C. et al. Selection of *Lactobacillus* strains from fermented sausages for their potential use as probiotics. **Meat Sci**., v. 67, p. 309-317, 2004.

46. PERUSSELLO, C. A.; AMARANTE, A. C. C.; MARIANI, V. C. Convective drying kinetics and darkening of *okara*. **Drying technology**, v. 27, n.10, p.1132–1141, 2009.

47. PETAJA, E. et al. Probiotic lactic acid bacteria as starters-applicability in raw ham and fermented meat products made from coarsely ground pork. **Fleischwirtschaft**, v. 83, p. 97-102, 2003.

48. RENTFROW, G. et al. Sensory characteristics of beef and pork processed meats containing non-solvent extracted texturized soy protein. **J. Muscle Foods**, 15, 225–234, p. 2004.

49. ROBERTSON, D. J. et al. Fat, fiber, meat and the risk of colorectal adenomas. **Am. J. Gastroenterol**., v.100, p.2789-2795, 2005.

50. ROSSI, E. A. **Desenvolvimento e avaliação biológica do potencial hipocolesterolêmico de um novo produto probiótico de soja**. 154f. Tese (Livre Docência) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, Araraquara, UNESP, Brasil, 2000.

51. ROSSI, E. A. et al. Efeito de um novo produto fermentado de soja sobre os lípides séricos de homens adultos normocolesterolêmicos. **Arch. Latinoamer. Nutr**., v. 53, p. 47-51, 2003.

52. ROSSI, E. A. et al. In vitro effects of *Enterococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus* on cholesterol. **Microbiologie-Aliments-Nutr**., v. 12, p. 267-270, 1994.

53. SABOYA, L. V.; OETTERER, M.; OLIVEIRA, A. J. Propriedades profiláticas e terapêuticas de leites fermentados – uma revisão. **Boletim SBCT**, v. 31, n. 2, p.176-187, 1997.

54. SAMS, A. R. Chapter 1: introduction to poultry meat processing. IN: SAMS, A.R. **Poultry Meat Process.**, Boca Raton: CRC Press, 2001.

55. SANTOS, G. C.; BEDANI, R.; ROSSI, E. A. Utilização de resíduo de soja (*okara*) no desenvolvimento de um cereal matinal. **Alim. Nutr**., v. 15, n. 1, p. 31-34, 2004.

56. SEBRANEK, J. G.; BACUS, J. N. Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issues? **Meat Sci**., v. 77, p. 136-147, 2007.

57. SHURTLEFF, W.; AOYAGI, A. Tofu and soymilk production. New Age Food Study Center, Lafayette, CA, USA. 1979.

58. SILVA, M. et al. Composição química e valor protéico do resíduo de soja em relação ao grão de soja. **Cienc. Tecnol. Alim**., v. 26, p. 571-576, 2006.

59. SINHA, R. et al. Meat intake and mortality. **Arch. Intern. Med**., v. 169, n.6, p. 562-571, 2009.

60. STANTON, C. et al. Market potencial for probiotics. **Amer. J. Clin. Nutr**., v. 73, supl. 2, p. 476-483, 2001.

61. TOMPKIN, R. B. Nitrite. In: DAVIDSON, P. M.; SOFOS, J. N.; BRANEN, A. L. (Ed.). Antimicrobials in food. 3rd ed. Boca Raton: CBC Press, 2005.

62. TORRES, E. A. F. S. et al. Composição centesimal e valor calórico de alimentos de origem animal. **Cienc. Tecnol. Alim.**, v. 20, n.2, p.145-150, 2000.

63. TURHAN, S.; TEMIZ, H.; SAGIR, I. Characteristics of beef patties using *okara* powder. **J. Muscle Foods**., v. 20, p. 89–100, 2009.

64. TURHAN, S.; TEMIZ, H.; SAGIR, I. Utilization of wet *okara* in low-fat beef patties. **J. Muscle Foods**., v. 18, p. 226-235, 2007.

65. UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRIGICULTURA-USDA. Ministério da Agricultura dos Estados Unidos da América. Disponível em: http://www.usda.gov Acesso em: dez 2005.

66. UTSUMI, S., MATSAMURA, Y.; MORI, T. Structure–function relationships of soy proteins. In: DAMODARAN, S.; PARAT, A. (ed). Food proteins and their applications. New York: Marcel Dekker. 1997, p. 257–291.

67. VIEIRA, S. L. Conceitos atuais de qualidade em produtos de frango: efeito da nutrição inicial. Simpósio Internacional de Tecnologia, Processamento e Qualidade da Carne de Aves, **Anais...** Concórdia: Embrapa, p. 60-68, 1999.

68. WALISZEWSKI, K., PARDIO, V; CARREON, E. Physicochemical and sensory properties of corn tortillas made from nixtamalized corn flour fortified with spent soymilk residue (*okara*). **J. Food Sci**., v. 67, p. 3194-3197, 2002.

69. YAMADA, E. Efeito e aceitabilidade de embutido fermentado cozido. Boletim do Ital, v. 23, n. 1, p. 19 - 27, 1993.

70. YANG, W. S. et al. Chuang, Weight reduction increases plasma levels of an adipose-derived anti-inflammatory protein, adiponectin, **J. Clin. Endocrinol. Metab**., v.86, p.3815– 3819, 2001.

CAPÍTULO 2

O EMPREGO DE RESÍDUO DE SOJA NO PROCESSAMENTO DE "HAMBÚRGUER" DE FRANGO FERMENTADO COM *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014

Trabalho a ser submetido à revista Alimentos e Nutrição, 2010

O emprego de resíduo de soja no processamento de um produto tipo hambúrguer de frango fermentado com *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014

Laura de Queiroz Bomdespacho*

Daniela Cardoso Umbelino Cavallini**

Elizeu Antônio Rossi**

RESUMO: *Okara* é o resíduo do processo de produção de "leite" de soja, cujo valor nutricional tem sido considerado por apresentar proteínas, lipídeos e fibras em quantidades significativas, além de compostos bioativos como as isoflavonas. As grandes quantidades de *okara* produzidas anualmente no Brasil e demais países geram um problema de eliminação e têm servido apenas para a alimentação de animais. Tal situação pode ser modificada por meio de estudos que demonstrem a viabilidade de sua utilização na alimentação humana. Nesse sentido, a proposta desse trabalho foi desenvolver um produto tipo hambúrguer à base de carne de frango, fermentado com cultivo probiótico, e que empregue em sua formulação a farinha de *okara*. As culturas láticas utilizadas são preparações com microrganismos vivos que desenvolvem uma atividade metabólica desejável na carne e têm sido muito usadas na indústria alimentícia, principalmente em embutidos fermentados bovinos e suínos. As análises sensoriais tiveram como objetivo avaliar a aceitação das diferentes formulações de "hambúrgueres" fermentados e não fermentados. Os resultados demonstraram que foi possível a elaboração de "hambúrguer" de frango, fermentado com *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014, adicionado de 10% de farinha de *okara*, apresentando características

tecnológicas e sensoriais adequadas. O cultivo probiótico de *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014 foi capaz de se desenvolver satisfatoriamente no produto cárneo em estudo, na ausência de sais de cura.

PALAVRAS-CHAVE: “Hambúrguer”, carne de frango; *okara*; *Lactobacillus acidophilus*; sais de cura.

_____

*Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos-Faculdade de Ciências Farmacêuticas -UNESP -14801-902-Araraquara - SP - Brasil.

**Departamento de Alimentos e Nutrição-Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - 14801-902- Araraquara -SP - Brasil.

Development a product like "hamburger" meat chicken (*Gallus gallus*) and soybean residue, fermented with *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014.

ABSTRACT: *Okara* is a residue of soy milk production process, whose nutritional value has been considered for containing proteins, lipids and fibers in significant amount, besides bioactive compounds such as isoflavone. Despite of these qualities, the great amount of *okara* produced annually in Brazil and other countries generate a disposable problem and have served only to feed animals. Such situation can be changed by studies demonstrating the viability of its utilization in food for humans. As a result, the purpose of this research was to develop a "hamburger" fermented with a probiotic culture, having as a basis chicken meat and using the okara flour in its formulation. These are preparations made with living microorganisms that develop a metabolic activity desirable in meat, wich have been largely used in food industry, mainly for fermented meat and porky products, such as sausages and frankfurters. The results have demonstrated that it was possible to elaborate a chicken hamburger, fermented with *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014, and the addition of 10% *okara* flour, which presented adequate technological and sensorial characteristics. The probiotics culture of *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014 was capable of developing satisfactorily in the studied product, in the absence of curing salts.

KEY-WORDS: "Burger", chicken meat; *okara*; *Lactobacillus acidophilus*.

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a preocupação crescente com a saúde e com a qualidade de vida tem levado as pessoas a procurarem por novos tipos de alimentos, principalmente os naturais, os de baixa caloria e os mais nutritivos[23] e, se possível, que apresentem propriedades funcionais.[11,19]

O frango, como a maioria das carnes de aves, fornece proteínas de ótima qualidade e tem sido classificado como alimento saudável, já que é pobre em gorduras, quando consumido sem pele.

Os produtos de soja possuem grande potencial de aplicação na indústria de alimentos devido as suas propriedades funcionais.[11] A soja (*Glycine max* (*L.*) *Merril*) e seus derivados têm recebido atenção de estudiosos devido à elevada quantidade protéica, além de fibras e oligossacarídeos com potencial prebiótico.[5] Há relatos sobre esses compostos auxiliando na prevenção de doenças crônico-degenerativas.[17,24]

Alguns derivados da soja (proteínas isoladas, concentradas e texturizadas) são amplamente utilizados na elaboração de produtos cárneos. Empregados como fonte protéica, atuam, também, como melhoradores tecnológicos realçando a textura, a maciez e agindo como emulsionante em salsicha e hambúrgueres.[18,8]

Os produtos cominuídos e moldados tipo hambúrguer sofrem processos de manipulação excessiva que prejudica a conservação, favorecendo a instalação e a veiculação de bactérias deteriorantes e patogênicas. Em razão disso, alguns estudiosos têm investigado o uso de cultura iniciadora na inibição de patógenos em produtos cárneos, especialmente os embutidos. Essas culturas iniciadoras, denominadas como *starters,* constituem-se de organismos vivos adicionados a alimentos com a finalidade de melhorar sua conservação, segurança e características sensoriais.[15,14]

A fermentação é produzida não somente pelas bactérias ácido láticas pertencentes aos gêneros *Streptococcus* e *Pediococcus*, mas também por *Lactobacillus* spp. A adição dessas bactérias pode acelerar o processo de maturação, produzindo ácido lático no início da fermentação, ocasionando a queda do pH; produzindo bacteriocinas, conferindo aos produtos melhor qualidade sanitária, devido à inibição de microrganismos indesejáveis como *Salmonella* spp*., Yersinia enterocolitica, Escherichia coli* enteropatogênica e *Campylobacter jejuni;* além de conferirem sabor característico aos produtos.[28,4,6]

Estudos têm mostrado que o uso de bactérias ácido láticas permite a redução dos sais de cura (nitritos e nitratos) em produtos cárneos, diminuindo assim a possibilidade de formação das nitrosaminas que são substâncias potencialmente carcinogênicas.[29,26]

A utilização de bactérias probióticas em alimentos tem se restringido basicamente aos produtos lácteos e similares, não sendo comum em produtos cárneos. Sendo assim, o objetivo desse estudo foi desenvolver um produto tipo hambúrguer, utilizando como matéria-prima básica a carne de frango associada a um sub-produto do processamento do extrato hidrossolúvel de soja - o *okara,* e fermentado com uma bactéria probiótica, a qual, mesmo não permanecendo viável após o processo de cocção do produto, pode produzir, durante o processo fermentativo, metabólitos como diacetil, peróxido de hidrogênio, ácido acético, ácido lático e bacteriocinas que são importantes para a saúde do consumidor.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

Filé de frango (m. *Pectoralis major*) moído adquirido no comércio local (Araraquara-SP); farinha de *okara* proveniente da Unidade de Desenvolvimento e Produção de Derivados de Soja (UNISOJA) do Departamento de Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas-UNESP Araraquara-SP e cultivo de *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014 proveniente da coleção de culturas do Centro de Referência para Lactobacilos (CERELA, San Miguel de Tucumán, Argentina).

2.2 Métodos

2.2.1 Preparo dos materiais

2.2.1.1 Carne de frango

Os músculos foram submetidos à retirada manual de gordura e tecidos conjuntivos intermusculares e pele. Este procedimento visou não só padronizar o teor de gordura da matéria-prima, mas também reduzir a variabilidade de textura associada à presença de tecido conjuntivo. Os músculos após a limpeza foram submetidos à moagem em disco com orifício de 16 mm. Embalados em sacos herméticos e armazenados congelados (-18ºC) até sua utilização.

2.2.1.2 Manutenção da cultura lática

A cultura de *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014 foi mantida congelada (-80ºC) em um meio composto de leite em pó desnatado, reconstituído a 10% e suplementado com 1% de glicose, 0,5% de extrato de levedura e reativada em caldo *Lactobacilli* MRS, a 37º C/16 horas. Após esse período, a suspensão foi centrifugada (3.000 g/5min.) e o sobrenadante foi eliminado e substituído por 10 mL de água fosfatada tamponada estéril. Esse mesmo procedimento foi repetido por mais duas vezes. A contagem de *L. acidophilus* foi realizada em meio *Lactobacilli* MRS, a população no inóculo foi de 10^8 UFC/ mL.

2.2.1.3 Obtenção da farinha de o*kara*

Foi obtida por secagem do resíduo de soja *in natura* colocado em estufa com circulação de ar forçada por aproximadamente 8 horas a 60ºC.[13] Em seguida, o resíduo foi pulverizado em moinho de bolas por 12 horas (Tecnal, Brasil) e tamisado em esteira (Tecnal, Brasil) por aproximadamente 10 minutos em tamises de 30 mesh com malha de 0,59 mm e estocado a -18º C.

2.2.1.4 Processamento

Após preparo da mistura da carne de frango moída com farinha de *okara* em diferentes proporções. Os aditivos foram adicionados observando-se as recomendações da legislação vigente[2] e os demais ingredientes utilizados na formulação dos produtos cárneos tipo hambúrguer foi baseada na literatura para salame e hambúrguer convencional de carne de aves (Tabela 1).[7,28]

Tabela 1: Formulação dos "hambúrgueres" à base de carne de frango e farinha de *okara*.

	Tratamentos*				
Composição	**F1**	**F2**	**F3**	**F4**	**F5**
Matérias-primas					
Carne de frango (%)	100	100	90	70	50
***Okara* (%)**	-	-	10	30	50
Ingredientes**					
Gelo (%)	20	20	20	30	40
Pimenta do Reino (%)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Alho em pó (%)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Cebola *in natura* (%)	2	2	2	2	2
Noz Moscada (%)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Sal (%)	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Dextrose (%)	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
BHT (%)	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Simplesse® (%)	1	1	1	1	1
Nitrito (%)	0,015	-	-	-	-
Nitrato (%)	0,03	-	-	-	-
Celulose (%)	2	2	2	2	2
Cultura Lática (%)	-	2,5	2,5	2,5	2,5

***F1** - Controle – formulação contendo 100% de carne de frango e sais de cura;

F2 - Formulação contendo 100% de carne de frango e fermentação com *L. acidophilus*;

F3 - Formulação contendo 90% de carne de frango e 10% *okara* e fermentação com *L.acidophilus*;

F4 - Formulação contendo 70% de carne de frango e 30% *okara* e fermentação com *L.acidophilus*;

F5 - Formulação contendo 50% de carne de frango e 50% *okara* e fermentação com *L.acidophilus.*

**Porcentagem em relação à quantidade de matéria-prima.

As formulações F2; F3; F4 e F5 foram acondicionadas em potes de polietileno de alta densidade (PEAD) e mantidas em câmara de incubação B.O.D. com umidade relativa de 80%, em temperatura em torno de 10ºC até que o pH atingisse o valor 5,1. A formulação F1 foi mantida sob congelamento a –18ºC.

Após a homogeneização, as massas das distintas formulações foram moldadas em formadora manual (Dark, Brasil). Cada unidade tinha aproximadamente 125 g e 10 cm de diâmetro. Os “hambúrgueres” já embalados foram mantidos sob congelamento a -18ºC até o momento de serem avaliados.

2.2.2 Análises

2.2.2.1 Rendimento na cocção e porcentagem de encolhimento

As determinações de rendimento na cocção e porcentagem de encolhimento foram realizadas através da pesagem antes e após cocção e a partir da variação do diâmetro da amostra. Para a realização dessas medidas, foram utilizadas oito amostras de cada tratamento, aquecidas em uma chapa (Edanca Prata, Brasil) a 160°C até atingirem a temperatura interna de 75°C (2,5 min. de cada lado) de acordo com a metodologia de Seabra et al.,[25]

Os porcentuais de rendimento na cocção e porcentagem de encolhimento foram calculados a partir das seguintes equações 1 e 2:

$$\% \text{ rendimento} = \left[\frac{(\text{Peso da amostra cozida} \times 100)}{\text{Peso da amostra crua}} \right] \quad \text{(eq. 1)}$$

$$\% \text{ encolhimento} = \left[\frac{(\text{Diâm. da amostra crua} - \text{Diâm. da amostra cozida})}{\text{Diâmetro da amostra crua}} \times 100\right] \quad (\text{eq.2})$$

2.2.2.2 Determinação de pH

De cada tratamento foram tomadas alíquotas de 10 g e homogeneizadas com 10 mL de água destilada. O produto homogeneizado foi utilizado para as medidas de pH ao longo do período de fermentação, utilizando-se um pHmetro (Qualxtron, USA) com eletrodo de vidro combinado. As medidas foram feitas sempre em triplicata.[12] Ao ser atingido o pH de 5,1 o processo de fermentação foi interrompido.

2.2.2.3 Avaliação sensorial

Todas as amostras foram avaliadas em cabines individuais, no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Alimentos e Nutrição da FCF-UNESP. As amostras foram servidas quentes, de forma monádica, em pratos brancos descartáveis, codificados com número de 3 dígitos, contendo 1/8 de “hambúrguer”. Água e biscoito tipo água e sal foram oferecidos aos 60 julgadores.

A avaliação da aceitação foi feita com base nos atributos aroma, sabor, cor, textura e impressão global, por meio de uma escala hedônica mista de 9 pontos. Os descritores utilizados durante a avaliação de aceitação foram: 9(gostei

extremamente), 8(gostei muito), 7(gostei moderadamente), 6(gostei ligeiramente), 5(nem gostei/nem desgostei), 4(desgostei ligeiramente), 3(desgostei moderadamente), 2(desgostei muito), 1(desgostei extremamente), de acordo com as recomendações de Stone & Sidel.[27]

Juntamente com aceitação do produto foi feita a avaliação de atitude de compra utilizando os seguintes descritores: 0(eu certamente não compraria este produto), 1(eu provavelmente não compraria este produto), 2(tenho dúvidas se compraria ou não este produto), 3(eu provavelmente compraria este produto), 4(eu certamente compraria este produto). Ao final de cada avaliação de atributos foram solicitados comentários sobre a amostra avaliada.[9]

2.2.2.4 Análise estatística

A análise estatística foi feita por meio da análise de variância (ANOVA) e teste de média de Tukey ao nível de 5% de significância. As análises estatísticas foram executadas utilizando-se o programa bioestat versão 3.0.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análises físico-químicas

3.1.1 Avaliação de pH

A medida de pH foi utilizada como uma maneira de controlar o tempo de fermentação dos produtos, uma vez que a multiplicação de *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014 provoca um aumento da acidez em decorrência da produção de ácido lático.

Inicialmente foi determinado o pH de 4,6 como indicativo do final do processo de fermentação. Entretanto, foi verificada em avaliações preliminares a incidência de um gosto amargo bastante pronunciado em todas as formulações fermentadas. Considerando que os lactobacilos normalmente apresentam uma atividade proteolítica intensa, é provável que processos mais longos de fermentações tenham produzido peptídeos de cadeia curta responsáveis por sabores amargos. Nesse sentido, o pH final dos produtos fermentados foi modificado para 5,1, o que reduziu em aproximadamente dois dias o tempo de fermentação, não mais sendo detectado o sabor amargo residual observado na situação anterior (pH=4,6).

Os valores de pH observados ao longo do processo fermentativo dos "hambúrgueres" F2, F3, F4 e F5 estão apresentados na Figura 1. Nota-se que o

produto F2, sem adição de farinha de *okara*, teve uma velocidade de acidificação menor que os demais produtos, provavelmente pela menor concentração de carboidratos presentes na formulação. Os demais produtos, todos adicionados de farinha de *okara,* apresentaram comportamento semelhante durante o processo de fermentação.

A cultura *starter* desempenhou importante função ao fermentar fontes de carboidratos do meio, liberando o ácido lático e reduzindo o pH do meio já no quarto dia. Em adição, as culturas *starters* normalmente produzem metabólitos que asseguram a redução da contaminação microbiana.[20]

De acordo com Lucke,[15] a queda do pH nos embutidos fermentados, para valores próximos a 5,0 nos primeiros dias de fermentação, torna o ambiente protegido contra a ação de bactérias gram negativas indesejáveis constituindo a base para sua segurança microbiológica.

Por outro lado, a redução do pH em produtos cárneos a valores próximos de 5,0 modificam a textura desses produtos, uma vez que o ponto isoelétrico das proteínas miofibrilares é alcançado, provocando perda de água.[3]

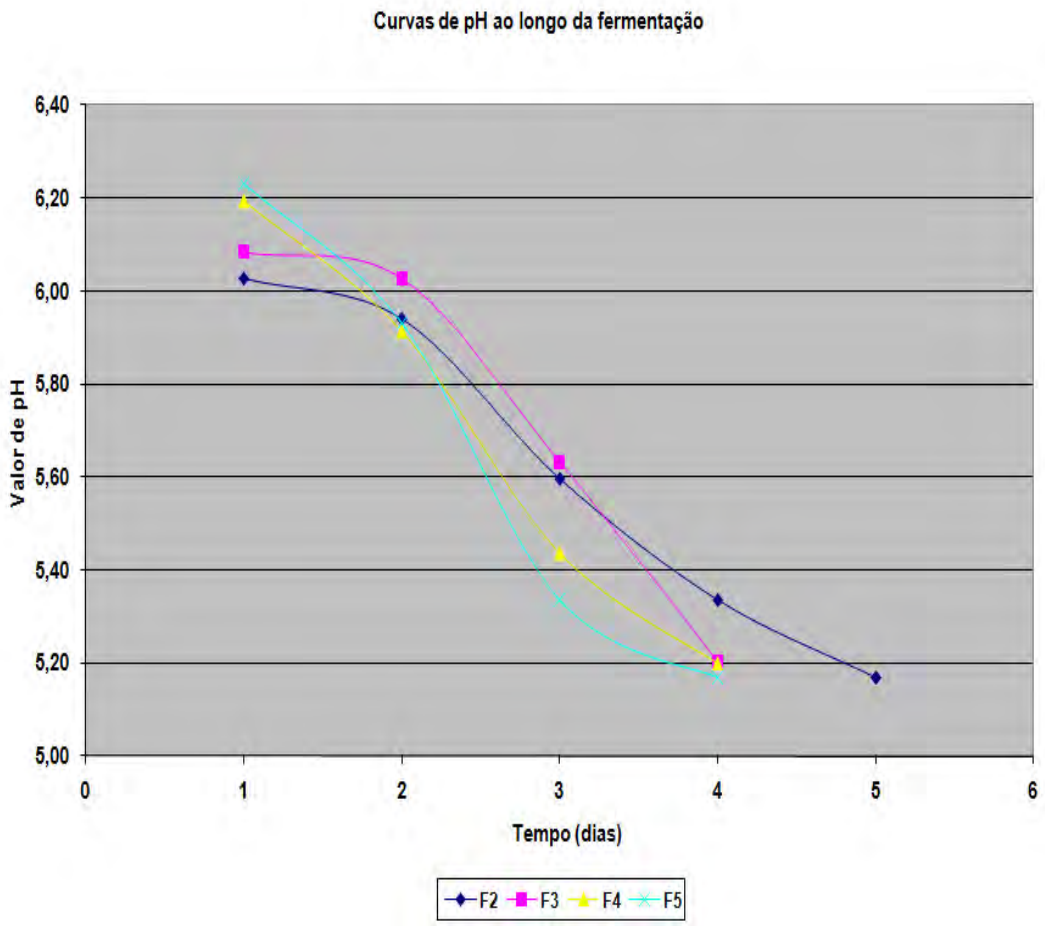

Figura 1: Valores de pH para "hambúrgueres" com cultura *starter* (*Lactobacillus acidophilus* CRL 1014) em diferentes níveis e sem adição de farinha de *okara*, durante cinco dias de fabricação.

F2 - Formulação contendo 100% de carne de frango e fermentação com *L. acidophilus*;

F3 - Formulação contendo 90% de carne de frango e 10% *okara* e fermentação com *L.acidophilus;*

F4 - Formulação contendo 70% de carne de frango e 30% *okara* e fermentação com *L. acidophilus*;

F5 - Formulação contendo 50% de carne de frango e 50% *okara* e fermentação com *L.acidophilus.*

3.1.2 Rendimento de cocção e porcentagem de encolhimento

Na Tabela 2 são apresentados os valores médios do rendimento e de encolhimento após a cocção.

Tabela 2: Valores médios (%) referentes ao rendimento e encolhimento após a cocção dos "hambúrgueres".

Parâmetros	**Tratamentos***				
	F1	**F2**	**F3**	**F4**	**F5**
Encolhimento (%)	$11,8^{b}\pm2,5$	$18,9^{a}\pm4,2$	$5,2^{c}\pm1,7$	$4,4^{c}\pm1,5$	nd
Rendimento de cocção (%)	$89,8^{b}\pm1,4$	$77,4^{c}\pm6,9$	$86,5^{b}\pm3,5$	$95,9^{a}\pm2,5$	nd

nd= não determinado

n=8 amostras.

Letras diferentes na linha indicam que houve diferença significativa entre os tratamentos pelo teste Tukey ($p<0,05$);

***F1** - Controle – formulação contendo 100% de carne de frango e sais de cura;

F2 - Formulação contendo 100% de carne de frango e fermentação com *L. acidophilus*;

F3 - Formulação contendo 90% de carne de frango e 10% *okara* e fermentação com *L.acidophilus*;

F4 - Formulação contendo 70% de carne de frango e 30% *okara* e fermentação com *L.acidophilus*;

F5 - Formulação contendo 50% de carne de frango e 50% *okara* e fermentação com *L.acidophilus.*

Os resultados relativos às análises de encolhimento, que é um importante parâmetro de qualidade em "hambúrgueres", revelaram que a fermentação realmente leva a um encolhimento maior e, consequentemente, a um menor rendimento. Isso pode ser confirmado com base nos valores obtidos para F1 e F2. O produto F5 contendo 50% de farinha de *okara* não foi determinado devido má estabilidade estrutural do produto em decorrência da alta concentração da farinha de *okara.*

Entretanto, nota-se também, que à medida que se adicionam a farinha de *okara* nos produtos F3 e F4 os valores de encolhimento vão sendo reduzidos e as porcentagens de rendimento vão aumentando. Tal fato demonstra uma provável capacidade da farinha de *okara* de aumentar a retenção de água nos produtos, mesmo tendo sido submetidos ao processo de fermentação.

Em trabalho de Velioglu et al.,[31] onde também analisaram o rendimento após a cocção, ficou demonstrado que a proteína texturizada de soja, adicionada em concentrações de 3 a 9% em "hambúrgueres", foi considerada como sendo o fator mais importante no sentido de minimizar a perda de gordura e de água durante a cocção.

Turhan et al.,[30] ao utilizarem *okara* integral (não desidratado) na formulação de "hambúrgueres" de carne bovina em concentração de até 22,5%, constataram a viabilidade de uso, uma melhora no rendimento após a cocção e uma redução no custo do produto.

Por outro lado, O'Toole[21] afirma que o emprego de *okara* não desidratado em produtos cárneos contribui para uma deterioração muito rápida, em decorrência dos altos níveis de umidade.

3.2 Avaliação sensorial

Os resultados relativos à avaliação sensorial dos diferentes "hambúrgueres" processados encontram-se apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Médias dos atributos sensoriais dos diferentes "hambúrgueres" processados.

Tratamentos*	Atributos sensoriais				
	Sabor	**Aroma**	**Textura**	**Cor**	**Impressão global**
F 1	$7,4^{a}\pm1,2$	$7,4^{a}\pm1,4^{a}$	$7,6^{a}\pm1,3$	$7,0^{a}\pm2,1$	$7,3^{a}\pm1,5$
F 2	$6,3^{b}\pm2,0$	$7,1^{a,b}\pm1,5$	$6,7^{b}\pm1,8$	$7,1^{a}\pm1,6$	$6,6^{a}\pm1,6$
F 3	$6,9^{a,b}\pm1,3$	$6,8^{a,b}\pm1,6$	$6,2^{b}\pm1,7$	$7,1^{a}\pm1,3$	$6,6^{a}\pm1,4$
F 4	$5,7^{c}\pm1,7$	$6,4^{b,c}\pm1,3$	$4,6^{c}\pm1,7$	$6,4^{a,b}\pm1,5$	$5,4^{b}\pm1,5$
F 5	$5,1^{c}\pm1,8$	$6,0^{c}\pm1,5$	$3,9^{c}\pm2,0$	$6,0^{b}\pm1,7$	$4,9^{b}\pm1,6$

Letras diferentes na mesma coluna indicam que houve diferença significativa entre os tratamentos pelo teste Tukey ($p<0,05$); n=60 julgadores

***F1** - Controle – formulação contendo 100% de carne de frango e sais de cura;

F2 - Formulação contendo 100% de carne de frango e fermentação com *L. acidophilus*;

F3 - Formulação contendo 90% de carne de frango e 10% *okara* e fermentação com *L.acidophilus*;

F4 - Formulação contendo 70% de carne de frango e 30% *okara* e fermentação com *L.acidophilus*;

F5 - Formulação contendo 50% de carne de frango e 50% *okara* e fermentação com *L. acidophilus*

Em relação ao atributo sabor, nota-se que as formulações F1 e F2 diferiram significativamente ($p < 0,05$) entre si, tendo sido a F1 (produto com 100% de carne de frango, não fermentado) a preferida pelos julgadores.

No tocante à formulação F3, percebe-se que ela não diferiu da formulação F1, a qual teve a maior média de aceitação para o atributo em questão. Tal resultado indica que a adição de 10% de farinha de *okara* não prejudica a avaliação sensorial do produto.

As formulações F4 e F5 foram as que apresentaram as menores médias e não diferiram entre si para o atributo sabor, indicando que as concentrações de 30 e 50% de farinha de *okara* diminuem a aceitação do produto.

Quanto ao segundo atributo avaliado, aroma, verifica-se que a formulação F5 (com 50% de farinha de *okara*) foi a que apresentou a menor média, não diferindo da formulação F4, contendo 30% de farinha de *okara*. As demais formulações não diferiram entre si, indicando que, também para esse atributo, a adição da farinha de *okara* em concentrações superiores a 10% interfere mais que o processo fermentativo.

No que se refere à textura, o "hambúrguer" processado com 100% de carne de frango apresentou a maior média, diferindo significativamente ($p < 0,05$) dos demais. A formulação F2, que também não apresentava em sua composição a farinha de *okara*, mostrou-se significativamente diferente da F1, dando indicação clara que o processo fermentativo influiu na textura dos produtos.

Vários trabalhos encontrados na literatura relativos ao processamento de salames (produto cárneo convencionalmente fermentado) mostram que a adição de cultivos probióticos não afeta negativamente as suas características sensoriais.[1,22,16]

Ainda em relação à textura, os resultados demonstram que concentrações de farinha de *okara* superiores a 10% determinam uma drástica redução na aceitação do produto. A textura está diretamente relacionada com o teor de gordura de um produto. Segundo Garcia et al.,[10] a redução da gordura torna a matriz cárnea mais compacta, alterando a textura do produto. Muito provavelmente a adição da farinha de *okara* promoveu uma redução no teor de gordura dos "hambúrgueres", determinando uma diminuição na aceitação em termos de textura à medida que a concentração aumentava.

Para o parâmetro cor, a formulação F5 foi a que apresentou a menor média, enquanto que as demais não diferiram entre si. É provável que o teor de umidade dos "hambúrgueres" com 50% de farinha de *okara* tenha influenciado na cor, tornando-os mais escuros com o mesmo tempo de fritura.

Finalmente, no que diz respeito à impressão global, verifica-se que os produtos resultantes das formulações F1, F2 e F3 apresentaram a mesma aceitação, o que indica, mais uma vez, que o processo fermentativo, conforme realizado no presente estudo, não interfere significativamente nas características sensoriais dos "hambúrgueres", ao contrário da adição da farinha de *okara* que acima de 10% determina uma redução em quase todos os atributos avaliados.

Ainda, em complementação à avaliação sensorial, a atitude de compra em relação aos produtos em análise também foi verificada. Na Figura 2 estão apresentados os valores encontrados nesse inquérito.

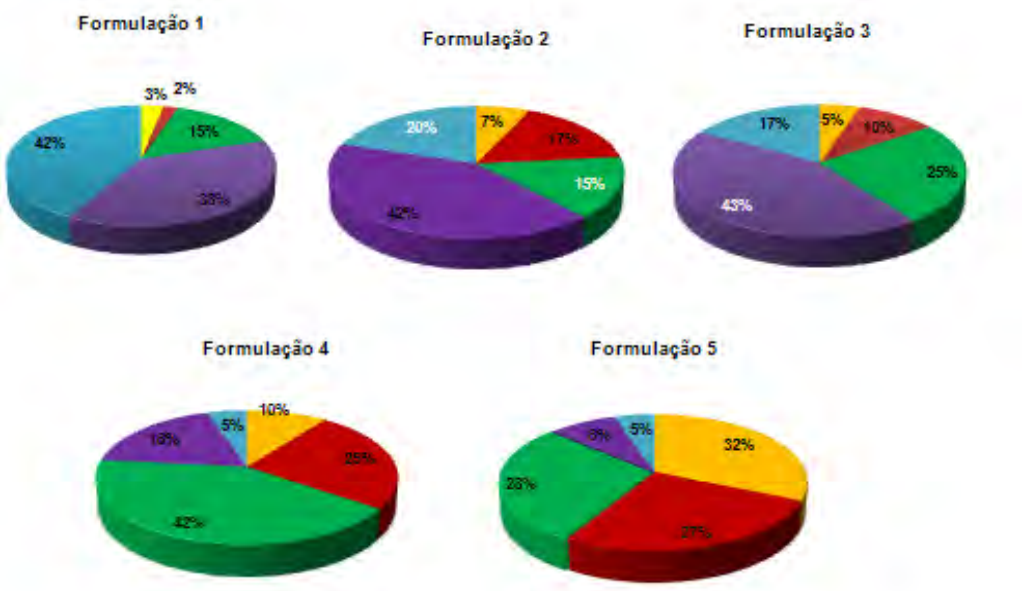

Figura 2: Representação gráfica dos resultados do teste de aceitação em relação à atitude de compra.

F1 - Controle – formulação contendo 100% de carne de frango e sais de cura;

F2 - Formulação contendo 100% de carne de frango e fermentação com *L. acidophilus*;

F3 - Formulação contendo 90% de carne de frango e 10% *okara* e fermentação com *L.acidophilus*;

F4 - Formulação contendo 70% de carne de frango e 30% *okara* e fermentação com *L.acidophilus*;

F5 - Formulação contendo 50% de carne de frango e 50% *okara* e fermentação com *L.acidophilus*

- Eu certamente não compraria este produto
- Eu provavelmente não compraria este produto
- Eu tenho dúvidas se compraria ou não este produto
- Eu provavelmente compraria este produto
- Eu certamente compraria este produto

Analisando a Figura 2 percebe-se claramente o alto índice de rejeição do produto contendo 50% de farinha de *okara* (F5), uma vez que recebeu 32% de respostas “eu certamente não compraria esse produto” e 27% de respostas “eu provavelmente não compraria esse produto”.

Em relação ao produto F1(100% de carne de frango e não fermentado), 80% dos julgadores disseram “eu provavelmente compraria esse produto” e “eu certamente compraria esse produto”, enquanto que 62% apresentaram as mesmas respostas para o produto F2 que também continha 100% de carne de frango, mas tinha passado pelo processo de fermentação. Tal situação demonstra que o processo de fermentação interfere negativamente na atitude de compra dos julgadores, muito provavelmente por tratar-se de uma situação incomum, já que tradicionalmente “hambúrgueres” não são fermentados.

Quanto aos produtos fermentados e com adição de farinha de *okara* (F3 e F4) fica nítido que a formulação contendo apenas 10% de farinha de *okara* obteve melhor intenção de compra, tendo recebido 60% de respostas entre “eu provavelmente compraria esse produto” e “eu certamente compraria esse produto”.

Em produtos que são tradicionalmente fermentados como os salames, por exemplo, a adição de cultivos probióticos normalmente não tem causado interferências em avaliações de parâmetros sensoriais.

Andersen[1] verificou que a adição das culturas probióticas *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis* ao salame não influenciou negativamente suas características de sabor e aroma. Da mesma forma, Pidcock et al.,[22] relataram que a adição de *Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus*

paracasei e Bifidobacterium lactis também em salame não mostrou impacto negativo sobre suas propriedades sensoriais.

4 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, pode-se afirmar que foi possível a elaboração de "hambúrgueres" de frango fermentados e adicionados de 10% de farinha de *okara*, apresentando características tecnológicas e sensoriais adequadas. O cultivo probiótico de *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014 foi capaz de se desenvolver satisfatoriamente no produto cárneo em estudo, na ausência de sais de cura.

5 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDERSEN, L. Fermented dry sausages produced with the admixture of probiotic cultures. In: INTERNATIONAL COMMITMENT OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 44, 1998, Barcelona. **Anais...** Barcelona: Instituti de Recerca i Tecnologia Agroalimentaries, 1998. p. 826-827.

2. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento Técnico: Atribuição de função de aditivos, aditivos e seus limites máximos de uso para a Categoria 8 - Carne e Produtos Cárneos, Portaria. nº 1004, **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 11 dez. 1998.

3. CAMPOS, R. M. L. **Influência da alimentação na qualidade da carcaça suína e do pernil para a fabricação do salame tipo italiano.** Santa Maria, 2002. 111f Dissertação - (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos)- Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2002.

4. CASABURI, A. et al. Technological activities of *Staphylococcus carnosus* and *Staphylococcus simulans* strains isolated from fermented sausages. **Meat Sci.**, v. 71, p. 643-650, 2005.

5. DE ANGELIS, R. C. **Fome oculta**: bases fisiológicas para reduzir seu risco. São Paulo: Atheneu, 1999.

6. DE VUYST, L.; FALONY, G.; LEROY, F. Probiotics in fermented sausages. **Meat Sci**., v. 80, p. 75-78, 2008.

7. DEUMIERA, F.; COLLIGNAN, A. The effects of sodium lactate and starter cultures on pH, lactic acid bacteria, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella spp*. levels in pure chicken dry fermented sausage. **Meat Sci**., n.65, p. 1165–1174, 2003.

8. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **A soja**. Disponível em: <http://www.cnpso.embrapa.br/index.php?oppage=22&codpai=16>. Acesso em: 16 abr. 2008.

9. FARIA, E. V; YOTSUYANAGI, K. Técnica de análise sensorial, 2. ed. Campinas: ITAL 2008, 120p.

10. GARCIA, F. T.; GAGLEAZZI, U. A.; SOBRAL, P. J. A. Variação das propriedades físicas e químicas do salame tipo italiano durante secagem e fermentação. **Braz. J. Food Technol.**, v. 3, p. 151-158, 2000.

11. HASLER, C. M. Functional foods: their role in disease prevention and health promotion. **Food Technol**., v. 57, p. 57-62, 2001.

12. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**: métodos químicos e físicos para análises de alimentos. 4. ed. São Paulo: O Instituto, 2005. 2017p.

13. LAROSA, G.; ROSSI, E. A.; BARBOSA, J. C.; CARVALHO, M. R. B. Aspectos sensoriais, nutricionais e tecnológicos de biscoito doce contendo farinha de 'okara'. **Alim. Nutr**., Araraquara, v.17, n.2, p.151-157, abri./jun. 2006.

14. LEROY, F.; VERLUYTEN, J.; DE VUYST, I. Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation. **Int. J. food Microbiol**., v. 106, p. 270-285, 2006.

15. LÜCKE, F. K. Utilization of microbes to process and preserve meat. **Meat Sci**., v. 56, p. 105-115, 2000.

16. MACEDO, R. E. F. et al. Desenvolvimento de embutido fermentado por *Lactobacillus* probióticos: características de qualidade. **Cienc. Tecnol. Alim.,** v. 28, n. 3, p. 509-519, 2008.

17. MESSINA, M. J. Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects. **Amer. J. Clin. Nutr**., v. 70, supl., p. 439-450, 1999.

18. MORAIS, A. A. C.; SILVA, A. L. Valor nutritivo e funcional da soja. **Rev. Bras. Nutr. Clin**., v. 15, n. 2, p. 306-315, 2000.

19. NIELSEN, A. C. Os produtos mais quentes do mundo. Informações sobre o crescimento de alimentos e bebidas, 2002. (Relatório executivo de notícias).

20. ORDÓNEZ, J. A.; HIERRO, E. M.; BRUNA, J. M. Changes in the components of dry-fermented sausages during ripening. **Crit. Rev. Food Sci**. **Nutr**., v. 39, n. 4, p. 329-367, 1999.

21. O'TOOLE, D. K. Characteristics and use of *okara*, the soybean residue from soy milk production - review. **J. Agric. Food Chem**., v. 47, p. 363-371, 1999.

22. PIDCOCK, K.; HEARD, G. M.; HENRIKSSON, A. Application of nontraditional meat starter cultures in production of Hungarian salami. **Int. J. Food Microbiol**., v. 76, n. 1-2, p. 75-81, 2002.

23. REINECCIUS, G. A. Flavor and nutritional concerns relating to the quality of refrigerated foods. **Food technol**., n. 1, p. 84-89, 1989.

24. ROSSI, E. A. et al. Efeito de um novo produto fermentado de soja sobre os lípides séricos de homens adultos normocolesterolêmicos. **Arch. Latinoamer. Nutr**., v. 53, p. 47-51, 2003.

25. SEABRA, L. M. J. et al. Fécula de mandioca e farinha de aveia como substitutos de gordura na formulação de hambúrguer de carne ovina. **Ciênc. Tecnol. Alim**., v. 22, n. 3, p. 244-248, 2002.

26. SEBRANEK, J. G.; BACUS, J. N. Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issues? **Meat Sci**., v. 77, p. 136-147, 2007.

27. STONE, H.; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices**. 2. ed. London: Academic Press, 1993. 338p.

28. SMULDERS, F. J. M. et al. Review: lactic acid: considerations in favour of its acceptance as a meat decontamininant. **J. Food Technol**., v. 21, p. 419-436, 1986.

29. TOMPKIN, R. B. Nitrite. In: DAVIDSON, P. M.; SOFOS, J. N.; BRANEN, A. L. (Ed.). Antimicrobials in food 3rd ed. Boca Raton: CBC Press, 2005.

30. TURHAN, S.; TEMIZ, H.; SAGIR, I. Utilization of wet *okara* in low-fat beef patties. **J. Muscle Foods**, v. 18, p. 226-235, 2007.

31. VELIOGLU, H. M. et al. Investigating the effects of ingredient levels on physical quality properties of cooked hamburger patties using response surface methodology and image processing technology. **Meat Sci**., v. 84, p. 477-488, 2010.

CAPÍTULO 3

SUBSTITUIÇÃO DE SAIS DE CURA PELO PROCESSO FERMENTATIVO EM "HAMBÚRGUER" MISTO DE CARNE DE FRANGO E *OKARA*

Trabalho a ser submetido à revista Alimentos e Nutrição, 2010

Substituição de sais de cura pelo processo fermentativo em "hambúrguer" misto de carne de frango e *okara*

Laura de Queiroz Bomdespacho*

Daniela Cardoso Umbelino Cavallini**

Adriana Cristina Marchese Zanarizi**

Roseli Aparecida Pinto**

Elizeu Antonio Rossi**

RESUMO: O objetivo desse estudo foi verificar o efeito da fermentação com *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014 nas características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais de um produto tipo hambúrguer à base de carne de frango e *okara*, com redução de sais de cura. Foram processados três tratamentos: F3 - 90% de carne de frango e 10% de *okara*, fermentado com *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014; F3A - 90% de carne de frango, 10% de *okara* e 75 mg de nitrito/kg, fermentado com *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014; F3B - 90% de carne de frango, 10% de *okara* e 150 mg de nitrito/kg, não fermentado. A qualidade dos "hambúrgueres" foi avaliada através de análises físico-químicas (pH, rendimento de cocção e encolhimento), químicas (composição centesimal), microbiológicas (pesquisa de *Salmonella* spp., contagem de clostrídios sulfito-redutores, estafilococos coagulase-positiva, coliformes totais e *Escherichia coli*) e sensoriais (teste de aceitação e intenção de compra). Durante os seis primeiros dias de fermentação verificou-se uma diminuição nos valores de pH de 6,33 para aproximadamente 5,1, sendo que o produto processado sem adição de sais de cura (F3) apresentou maior velocidade de acidificação. As amostras não diferiram

significativamente entre si em relação à composição química (p<0,05). O processo fermentativo foi capaz de inibir a multiplicação de microrganismos dos grupos estafilococos coagulase-positiva, clostrídios sulfito redutores, *Salmonella* spp. e *E. coli*. Os "hambúrgueres" apresentaram médias elevadas para todos os atributos sensoriais avaliados, sem diferirem significativamente entre si em relação à cor, ao aroma, ao sabor e à impressão global (p<0,05). Os resultados obtidos mostraram que a utilização de *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014 como cultura *starter* na produção de "hambúrguer" misto de carne de frango e *okara* é viável, pois permitiu a obtenção de um produto seguro, com características físico-químicas e sensoriais adequadas e livre de sais de cura.

PALAVRAS-CHAVE: Carne de frango; "hambúrguer"; *okara*; *Lactobacillus acidophilus*, sais de cura.

---

*Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos-Faculdade de Ciências Farmacêuticas -UNESP -14801-902-Araraquara -SP - Brasil.

**Departamento de Alimentos e Nutrição-Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - 14801-902- Araraquara -SP - Brasil.

Substitution of curing salts by fermentation process in chicken meat "hamburger" with okara

ABSTRACT: The aim of this study was to verify the effect of fermentation with *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014 in the physical-chemical, microbiological and sensorial characteristics of a product similar to a hamburger made with chicken meat and *okara*, with the reduction of curing salts. Three treatments were processed: F3 - 90% chicken meat and 10% *okara*, fermented with *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014; F3A - 90% chicken meat and 10% *okara* and 75 mg nitrite/kg, fermented with *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014; F3B - 90% chicken meat and 10% *okara* and 150 mg nitrite/kg, non-fermented. The quality of hamburgers was evaluated through the following analyses: physic-chemical (pH, cooking profit and shrinking); chemical (centesimal composition); microbiological (testing for *Salmonella* spp., by counting clostridium sulfite-reducers, staphylococcus coagulase-positive, total coliforms and *Escherichia coli*) and sensorial analyses (acceptance tests and purchase intention). During the six first days of fermentation a decrease on pH values from of 6,33 to approximately 5,1 was noticed, in which the processed product with no addition of curing salts (F3) was the one presenting more speed of acidification. The samples did not differ significantly among each other when relating to chemical composition ($p>0,05$). The fermentative process inhibited the growth of microorganisms from the clostridium sulfite-reducers, staphylococcus coagulase-positive, *Salmonella* spp. and *E. coli*. The "hamburgers" presented high averages for all sensorial attributes evaluated, not being different among each other as to color, smell, flavor and

global impression (p>0,05). The obtained results showed that the use of *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014 as a starter culture in the production of mixed chicken meat and *okara* “hamburger” is feasible, as it has created a safe product, with adequate physical-chemical and sensorial characteristics, in addition to being free of curing salts.
KEY-WORDS**:** Chicken meat; “hamburger”; *okara*; *Lactobacillus acidophilus*, curing salts.

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, considerando as exigências do mercado consumidor, torna-se necessária a diversificação na produção de produtos cárneos. Nesse sentido, a carne de frango vem sendo industrializada na forma de produtos anteriormente produzidos com carnes suína e bovina, como linguiças, mortadelas, salsichas, fiambres e hambúrgueres. A utilização de *okara*, um subproduto da produção de extrato aquoso de soja, rico em fibras e proteína, também poderia auxiliar na obtenção de derivados cárneos diferenciados.[41]

No Brasil, a oferta de produtos cárneos fermentados é limitada, uma vez que esse segmento é dominado pelos embutidos. A fermentação é considerada uma forma efetiva de aumentar a vida de prateleira de alimentos e bebidas através da ação de microrganismos e de seus metabólitos.[32] Entre as variáveis importantes no processamento de produtos cárneos fermentados, destaca-se a seleção de culturas *starters,* que devem ser capazes de otimizar o tempo de

produção, auxiliar na conservação através da produção de compostos com atividade antimicrobiana e alterar positivamente as características sensoriais do produto.[24,24,9,13] As culturas *starters* tradicionalmente utilizadas na fermentação de produtos cárneos incluem bactérias pertencentes aos gêneros: *Streptococcus, Staphilococcus, Micrococcus, Leuconostoc, Pediococcus e Lactobacillus*, devido a sua capacidade de reduzir o pH do meio e de conferir propriedades sensoriais desejáveis aos alimentos.[43]

Tradicionalmente, os produtos cárneos são elaborados com sais de cura (nitrito e nitrato) com o objetivo de inibir a multiplicação de microrganismos patogênicos, em especial do *Clostridium botulinum*, bactéria altamente resistente ao tratamento térmico e produtora de uma potente neurotoxina. No entanto, o nitrito residual presente em alimentos pode reagir com aminoácidos e aminas dando origem às nitrosaminas, compostos associados ao desenvolvimento de câncer e de outras doenças crônico-degenerativas.[11] Dessa forma, o uso de sais de cura tem sido reconsiderado, sendo sugerido reduções drásticas nos níveis de nitrito e nitrato em produtos cárneos.

A utilização de culturas probióticas na fermentação de alimentos tem sido amplamente estudada com o objetivo de melhorar a segurança e a aceitação do produto final, constituindo uma alternativa viável para a redução de sais de cura em produtos cárneos.[40,37,13]

Vários estudos têm relatado o uso de diferentes cepas de *Lactobacillus* spp. como culturas *starters* na fabricação de produtos cárneos, na tentativa de controlar ou inibir a multiplicação de microrganismos deteriorantes e patogênicos.[28,18] Estudos anteriores mostraram que a cepa de *Lactobacillus acidophillus* CRL 1014 apresenta capacidade de se desenvolver na presença de sais biliares e em condições ácidas e de reduzir o colesterol adicionado ao meio de cultura. A mesma cepa foi utilizada com sucesso na obtenção de um *frozen yogurt* de soja, porém o efeito desse microrganismo como cultura *starter* em produtos cárneos ainda não foi avaliado.[31,24]

Diante das considerações acima, o objetivo do presente estudo foi verificar o efeito da fermentação com *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014 nas características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais de um produto tipo hambúrguer à base de carne de frango e *okara*, com redução de sais de cura.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

Para a elaboração do “hambúrguer” utilizou-se como matéria-prima músculo correspondente ao filé do frango moído, adquirido no comércio local (Araraquara-SP) e farinha de *okara* seca, um subproduto do processamento do extrato aquoso de soja, produzido na Unidade de Desenvolvimento e de Produção de Derivados de Soja (UNISOJA, Araraquara-SP). As formulações também continham dextrose

(Synth, São Paulo), celulose microfina (Rhoester, Vargem Grande Paulista), substituto de gordura (Simplesse® Dry 100, CP Kelco, Limeira), nitrito (Synth, São Paulo), nitrato (Synth, São Paulo) e BHT (Synth, São Paulo). Os demais ingredientes foram adquiridos no comércio local. Como cultura iniciadora foi utilizada a cepa probiótica de *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014, proveniente do Centro de Referência para Lactobacilos (CERELA, San Miguel de Tucumán, Argentina).

2.1.1 Manutenção das culturas láticas e preparo do inóculo

A cepa de *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014 foi mantida congelada (-80ºC) em um meio composto de leite em pó desnatado, reconstituído a 10% e suplementado com 1% de glicose e 0,5% de extrato de levedura. As células de *L. acidophilus* CRL 1014 foram reativadas em caldo MRS, na concentração de 10% (v/v) e mantidas a 37ºC por 16 horas. Após esse período, a suspensão foi centrifugada (3.000 g/10 minutos) e o sobrenadante descartado. A seguir, as células foram lavadas duas vezes com água fosfatada tamponada, antes de serem utilizadas na inoculação da massa cárnea. A população de *L. acidophilus* no inóculo foi de no mínimo 10^8 UFC/mL.

2.1.2 Preparo da farinha de *okara*

A farinha de *okara* foi obtida por secagem do resíduo de soja *in natura* em estufa com circulação de ar forçada, por aproximadamente 8 horas a 60ºC.[21] Após

a secagem, o resíduo foi resfriado à temperatura ambiente e pulverizado em moinho de bolas por 12 horas (Tecnal, Brasil). Após essa fase, a farinha foi tamisada em esteira (Tecnal, Brasil) por aproximadamente 10 minutos em tamises de 30 *mesh,* com malha de 0,59 mm e estocada em freezer a -18ºC.

2.1.3 Processamento dos "hambúrgueres"

De acordo com o capítulo 2, dentre as formulações estudadas contendo farinha de *okara* e fermentadas com o *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014 somente a formulação F3 contendo 10% de okara foi à escolhida para dar continuidade aos estudos.

A quantidade de matéria-prima e dos demais ingredientes utilizados na formulação dos produtos cárneos tipo hambúrguer foi baseada em formulações descritas na literatura para salame bovino e produto tipo hambúrguer com adição de farinha de *okara* (Tabela 1).[12,42]

Tabela 1: Matérias-primas e ingredientes utilizados na preparação dos "hambúrgueres".

Composição	Tratamentos*		
	F3	**F3A**	**F3B**
Matérias-primas			
Carne de frango (%)	90	90	90
***Okara* (%)**	10	10	10
Ingredientes **			
Gelo (%)	20	20	20
Pimenta do Reino (%)	0,2	0,2	0,2
Alho em pó (%)	0,2	0,2	0,2
Cebola *in natura* (%)	2,0	2,0	2,0
Noz Moscada (%)	0,1	0,1	0,1
Sal (%)	1,5	1,5	1,5
Dextrose (%)	1,5	1,5	-
BHT (%)	0,01	0,01	0,01
Simplesse® (%)	1,0	1,0	1,0
Nitrito (%)	-	0,0075	0,015
Nitrato (%)	-	0,015	0,03
Celulose (%)	2,0	2,0	2,0
Cultura Lática (%)	2,5	2,5	-

***F3** - 90% de carne de frango e 10% *okara,* fermentado com *L. acidophilus* CRL 1014;

F3A - 90% de carne de frango, 10% *okara,* e 75mg/kg nitrito, fermentado com *L. acidophilus* CRL1014;

F3B - 90% de carne de frango, 10% *okara* e 150mg/kg nitrito, não fermentado.

** Porcentagem em relação à quantidade de matéria-prima.

Foram processados e avaliados três tratamentos de "hambúrgueres" de frango:

- Formulação F3: 90% de carne de frango e 10% de farinha de *okara*, fermentado com *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014.

- Formulação F3A: 90% de carne de frango, 10% de farinha de *okara* e 75 mg de nitrito/kg, fermentado com *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014.

- Formulação F3B: 90% de carne de frango, 10% de farinha de *okara* e 150 mg de nitrito/kg, não fermentado.

Na Figura 1 é apresentado o fluxograma geral do processamento dos "hambúrgueres" à base de carne de frango e resíduo de soja.

Porções de filé de frango, sem pele e sem gordura, foram moídas em disco de 16 mm. A seguir, os demais ingredientes foram misturados à carne (temperatura entre 6° e 7°C), na seguinte ordem: gelo, farinha de *okara*, condimentos (sal, pimenta do reino, cebola *in natura*, alho desidratado, noz moscada), Simplesse®, BHT, celulose e, quando cabia, eram adicionados nitrito, nitrato e dextrose. Devido à utilização de um corte de frango magro, foi necessária a adição de substituto de gordura (Simplesse®), para que as características do produto fossem preservadas. Finalmente, a cultura *starter* probiótica de *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014 foi adicionada às formulações F3 e F3A em quantidade suficiente para alcançar 10^8 UFC/mL e a massa cárnea foi misturada até completa homogeneização.

As misturas resultantes (F3 e F3A) foram acondicionadas em potes de polietileno de alta densidade (PEAD), cobertos com plástico PVC, permanecendo em câmara de incubação B.O.D., com umidade relativa de 80% e temperatura em torno de 10º C, até que o pH atingisse o valor 5,1. A umidade relativa da estufa B.O.D controlada através de uma solução saturada a 70% de sulfato de amônio. A

massa obtida após o processo fermentativo foi moldada em formadora Dark, em unidades de aproximadamente 125 gramas e 10 cm de diâmetro. A formulação 3 foi mantida a -18ºC. Todos os produtos foram pré-congelados (-4°C), embalados em sacos plásticos de polietileno de baixa densidade (PEBD), identificados e estocados a temperatura de -18º C até a realização das análises.

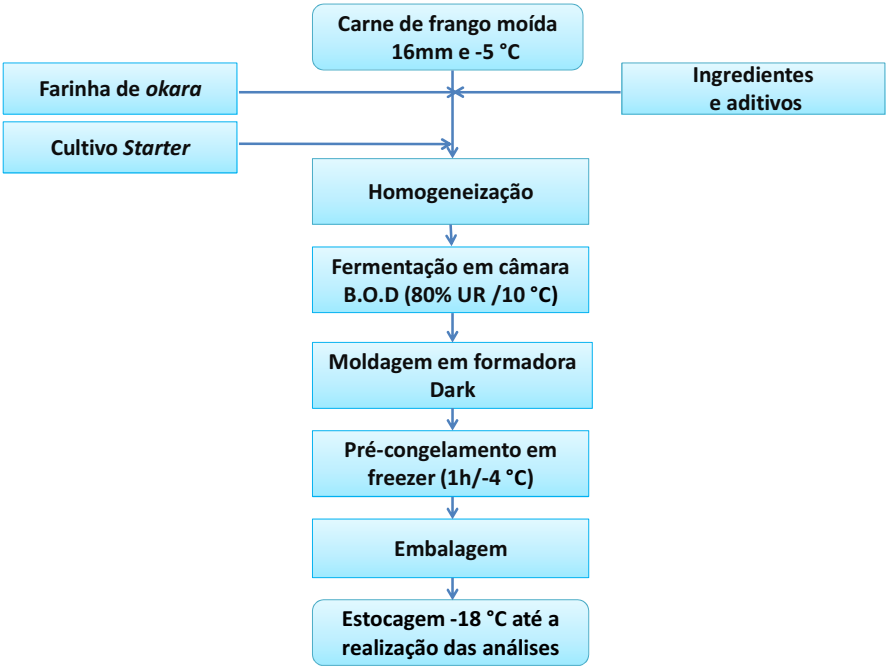

Figura 1: Fluxograma geral do processamento dos "hambúrgueres" de frango e *okara*.

Para as avaliações físicas de encolhimento, rendimento de cocção e sensoriais os "hambúrgueres" foram grelhados no estado congelado, em chapa (Edanca Prata, Brasil) aquecida por aproximadamente 12 minutos a 160 ºC, sendo virados a cada dois minutos até alcançarem uma temperatura interna de 75 ºC (Figura 2). Para o controle da temperatura interna foi utilizado um termômetro digital equipado com termopar de cobre/ "constan" (Delta OMH, Itália).[36]

Figura 2. Preparo dos “hambúrgueres” para as análises físicas e sensoriais.

2.2 Métodos

2.2.1 Análises físico-químicas

2.2.1.1 Rendimento na cocção e porcentagem de encolhimento

As determinações de rendimento na cocção foram realizadas através da pesagem antes e após cocção e a porcentagem de encolhimento a partir da variação do diâmetro da amostra, ambas as análises em 8 replicatas.[34]

2.2.1.2 Determinação de pH

As determinações de pH foram realizadas em pHmetro digital, com eletrodo de vidro combinado (Qualxtron, USA), em amostras preparadas pela mistura de 10

g de “hambúrguer” e 10 mL de água destilada.[18]A modificação nesse parâmetro foi monitorada até que o pH atingisse o valor de 5,1.

2.2.2 Composição centesimal

Os teores de umidade, proteínas e cinzas foram determinados segundo metodologia descrita pela AOAC[3] e a concentração de lipídeos, segundo a instrução normativa nº 20 do Ministério da Agricultura e do Abastecimento.[5] A determinação dos teores de carboidratos totais foi realizada por diferença:[17,41]

% carboidratos totais= 100% - % (umidade + cinzas + proteínas + lipídeos).

2.2.3 Análise microbiológica

Os produtos foram avaliados microbiologicamente, considerando as classes de microrganismos exigidas pela legislação vigente para hambúrgueres.[7]

Para caracterização dos “hambúrgueres” foram retiradas amostras de cada uma das três formulações, sendo nas formulações fermentadas F3 e F3A no início e no final etapa de fermentação. A formulação não fermentada F3B se manteve congeladas e analisadas juntamente com a F3 e F3A. As análises de clostrídios sulfito-redutores, *Salmonella* spp. e estafilococos coagulase-positiva foram realizadas segundo metodologia descrita por Downes & Ito.[15] Para a contagem de coliformes totais foi adotada a metodologia proposta pela *Association of Official Analytical Chemists* – AOAC.[4]

A contagem de clostrídio sulfito-redutor foi realizada pelo o método de plaqueamento em profundidade, utilizando o Ágar Triptose Sulfito Cicloserina (TSC). As amostras foram incubadas a 44ºC por 18-24 horas, em atmosfera de anaerobiose.

A pesquisa de *Salmonella* spp foi realizada com 225 mL de caldo lactosado incubado a 35º-37°C por 24h. Alíquotas deste caldo foram transferidas para os caldos Rappaport Vassiliadis (RV) e Tetrationato de Kauffmann (TT), com incubação a 42º C e 35°C, respectivamente por 24h. Após a incubação, foram utilizados os meios de plaqueamento Ágar Sulfito de Bismuto (BS) e Agar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) que foram incubados a 35°C por 24h. As colônias suspeitas foram submetidas à identificação bioquímica em Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) e em Ágar Lisina Ferro (LIA) com incubação a 35º-37°C por 24h. Também foram realizados testes sorológicos *Salmonella* O Difco™ Antiserum Poly A ilvi e *Salmonella* H Difco™ Antiserum Poly A-Z.

A contagem de coliformes totais termotolerantes e *E. coli* foram determinadas pelo plaqueamento em superfície de Petrifilm™ *E. coli Count Plates* (ECC) incubados a 37ºC por 48h.

A análise de estafilococos foi determinada utilizando o plaqueamento em superfície, após transferir alíquotas para placas contendo o meio Ágar Baird-

Parker enriquecido com solução de gema de ovo com telurito. As mesmas foram incubadas a 35º-37°C por 48h. Colônias típicas foram isoladas para realização das provas de Gram, catalase, coagulase livre.

2.2.4 Análise sensorial

Os testes sensoriais foram realizados em cabines individuais, no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP, Araraquara. Os "hambúrgueres" grelhados foram cortados e servidos para análise em temperatura de aproximadamente 45°C. As amostras foram apresentadas aos julgadores em blocos completos casualisados, de forma monádica, em pratos brancos descartáveis, codificados com algarismos de três dígitos. A equipe foi composta por 60 julgadores não treinados, recrutados entre alunos e funcionários da FCF - UNESP, Araraquara e habituados ao consumo de "hambúrguer" formulado com carne de aves.

2.2.4.1 Teste de aceitação e Intenção de compra

No teste de aceitação dos produtos foram avaliados os atributos aroma, cor, textura, sabor e impressão global, sendo utilizada uma escala hedônica estruturada mista de nove pontos.[39]

Para avaliar a intenção de compra foi utilizada uma escala estruturada de cinco pontos, variando de “certamente compraria” a “certamente não compraria” o produto.[16]

2.2.5 Análise estatística

Os dados obtidos foram avaliados por análise de variância (ANOVA) e teste de médias de Tukey, sendo adotado um nível de 5% de significância. As análises estatísticas foram executadas utilizando-se o programa Bioestat versão 3.0.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análises físico-químicas

3.1.1 Rendimento de cocção e encolhimento

Na Tabela 2 são apresentados os valores médios do rendimento e de encolhimento após a cocção.

Em relação ao rendimento de cocção, os tratamentos F3 e F3A (produtos fermentados) não diferiram entre si ($p>0,05$). Por outro lado o “hambúrguer” fermentado sem redução sais de cura (F3) não diferiu do não fermentado (F3B) em relação a esse parâmetro.

Os “hambúrgueres” fermentados (F3 e F3A) apresentaram os maiores valores para o parâmetro encolhimento ($p>0,05$), indicando que o processo fermentativo contribui significativamente para a redução do diâmetro dos produtos.

Tabela 2: Valores médios (%) referentes ao rendimento e encolhimento após a cocção dos “hambúrgueres”.

Parâmetros	**Tratamentos**		
	F3	**F3A**	**F3B**
Encolhimento (%)	$9,0^{a} \pm 1,5$	$8,0^{a} \pm 2,0$	$5,1^{b} \pm 1,3$
Rendimento de cocção (%)	$88,8^{a,b} \pm 1,9$	$86,8^{b} \pm 4,3$	$91,0^{a} \pm 2,4$

Letras diferentes na mesma linha indicam que houve diferença significativa entre os tratamentos pelo teste médias de Tukey ($p>0,05$). n=8 amostras.

F3 - 90% de carne de frango e 10% *okara,* fermentado com *L. acidophilus* CRL 1014;

F3A - 90% de carne de frango, 10% *okara,* e 75mg/kg nitrito, fermentado com *L. acidophilus* CRL1014;

F3B - 90% de carne de frango, 10% *okara* e 150mg/kg nitrito, não fermentado.

A capacidade de retenção de água é uma propriedade fundamental para a qualidade da carne e pode ser definida como a capacidade da carne reter umidade durante a aplicação de forças externas como corte, trituração e aquecimento. Quando a capacidade de água diminui as perdas de umidade e de peso são grandes.[31]

A capacidade de retenção de água da carne é menor em pH entre 5,2 e 5,3, ou seja, no ponto isoelétrico da maioria das proteínas musculares. Dessa forma, ao final do processo fermentativo a produção de ácido e a consequente queda no

pH, resulta em redução da capacidade de retenção de água, explicando a diminuição do rendimento do “hambúrguer” fermentado após o cozimento.

3.1.2 Medida de pH

O declínio do pH final para valores inferiores a 5,3 durante os primeiros dias de fermentação é importante para garantir a qualidade e a segurança dos produtos fermentados, pois confere características sensoriais desejáveis e inibe a multiplicação de microrganismos patogênicos.[22,24]

As mudanças nos valores de pH durante o período de fabricação dos “hambúrgueres” fermentados (F3 e F3A) estão apresentadas na Figura 3.

Durante os seis primeiros dias de fermentação verificou-se uma diminuição nos valores de pH de 6,33 para aproximadamente 5,1, provavelmente devido ao acúmulo de ácido lático produzido pela cepa de *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014 durante o processo fermentativo. Resultados semelhantes foram obtidos em um estudo conduzido por Sawitzki[35] que avaliou a utilização de bactérias láticas na produção de salame tipo italiano. Os autores verificaram redução nos valores de pH inicial de 5,89 para 5,14 após uma semana de fermentação.

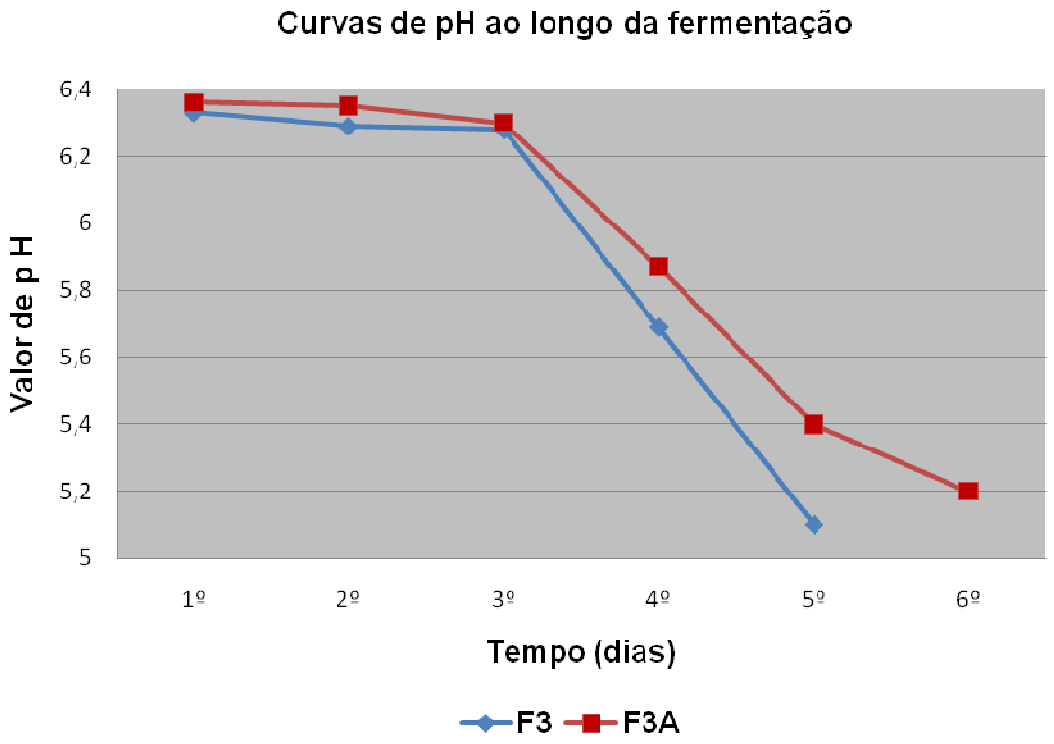

Figura 3: Variação nos valores de pH durante a fermentação dos "hambúrgueres" com *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014.

F3 - 90% de carne de frango e 10% *okara,* fermentado com *L. acidophilus* CRL 1014;

F3A - 90% de carne de frango, 10% *okara,* e 75mg/kg nitrito, fermentado com *L acidophilus* CRL1014;

As análises foram feitas em triplicata

O desenvolvimento de produtos cárneos fermentados pressupõe o uso de bactérias resistentes ao nitrito, nitrato e ao cloreto de sódio e capazes de multiplicar rapidamente durante a fermentação.[29] Sameshima et al.,[34] testaram a resistência de 202 espécies de lactobacilos probióticos de origem intestinal frente ao nitrito de sódio e ao cloreto de sódio, adicionados em meio líquido, e observaram que as cepas de *L. paracasei* ssp. *paracasei*, *L. rhamnosus* e *L. acidophilus* apresentaram-se tolerantes a esses sais. No presente estudo, o produto fermentado processado sem adição de sais de cura (F3) apresentou maior

velocidade de acidificação, indicando que a presença de nitrito e nitrato de sódio pode inibir parcialmente a multiplicação da cultura *starter* (*Lactobacillus acidophilus* CRL 1014). No entanto, o aumento no tempo de fermentação observado foi de apenas um dia, não inviabilizando o processo de obtenção do produto cárneo fermentado.[34]

3.2 Composição química

Os resultados da composição química dos tratamentos são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Composição centesimal dos diferentes tratamentos de "hambúrgueres" crus.

Composição (%)	Tratamentos*		
	F3	**F3A**	**F3B**
Umidade	69,33 ^{a} ± 0,55	69,97 ^{a} ± 1,59	70,47 ^{a} ± 2,04
Proteínas	20,33 ^{a} ± 1,23	19,67 ^{a} ± 1,3	19,87 ^{a} ± 1,20
Gorduras	3,90 ^{a} ± 0,20	3,67 ^{a} ± 0,23	3,67 ^{a} ± 0,21
Cinzas	0,93 ^{a} ± 0,06	0,90 ^{a} ± 0,10	0,93 ^{a} ± 0,06
Carboidratos	5,50 ^{a} ± 0,72	5,80 ^{a} ± 0,69	5,07 ^{a} ± 0,60

***F3** - 90% de carne de frango e 10% *okara,* fermentado com *L. acidophilus* CRL 1014;
F3A - 90% de carne de frango, 10% *okara,* e 75mg/kg nitrito, fermentado com *L. acidophilus* CRL1014;
F3B - 90% de carne de frango, 10% *okara* e 150mg/kg nitrito, não fermentado.
Médias com letras iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si (p>0,05).
As análises foram feitas em triplicata

O Mistério da Agricultura recomenda que os hambúrgueres atendam aos seguintes requisitos em relação à composição química: gordura (máxima) 23,0%; proteína (mínima) 15,0%; carboidratos totais 3,0%; teor de cálcio (máximo base seca) 0,1% em produto cru e 0,45% em produto cozido.[6]

De acordo com os resultados obtidos nesse estudo (Tabela 3), não foi observada diferença significativa entre as amostras ($p>0,05$) em relação à composição química. As concentrações de lipídeos e proteínas de todas as amostras se encontram dentro dos limites exigidos pela legislação brasileira, através do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Hambúrguer.[6]

Em comparação com outros trabalhos que utilizaram *okara* na formulação de "hambúrgueres", observa-se uma grande variação nos resultados da composição química, provavelmente devido a natureza das matérias-primas utilizadas. Em trabalho realizado por Turan et al.,[42] que analisou produto cárneo bovino cru, com adição de 10% de *okara*, foi encontrada a seguinte composição: 58,89% de umidade, 20,43% de proteínas, 14,01% de lipídeos, 2,84% de cinzas e 3,84% de carboidratos.

3.3 Avaliações microbiológicas

As aves encaminhadas para o abate normalmente são fonte inicial de contaminação e o número de microrganismos presentes pode ser influenciado pelas condições higiênicas de abate e processamento.[23]

A Resolução RDC nº. 12 de 02 de janeiro de 2001[7] estabelece como padrão microbiológico para produtos cárneos, incluindo hambúrgueres, o limite máximo de $5x10^3$ UFC/g para estafilococos coagulase-positiva, $3x10^3$ UFC/g para clostrídios sulfito redutores, $5x10^3$ UFC/g para coliformes termotolerantes e ausência de *Salmonella* spp. Apesar da legislação não incluir limites para microrganismos pertencentes ao grupo coliformes totais, está análise foi incluída, pois reflete as condições higiênicas do produto, sendo considerada um indicativo da contaminação decorrente de falha durante o processamento, limpeza inadequada ou tratamento térmico insuficiente.[28] A investigação da presença de *E. coli* se justifica pelo fato desse microrganismo ser o principal componente do grupo coliformes termotolerantes e pela patogenicidade associada a algumas cepas dessa espécie.

A caracterização microbiológica dos diferentes produtos antes e após a fermentação é apresentada na Tabela 4.

Tabela 4: Caracterização microbiológica dos diferentes tratamentos de "hambúrgueres" crus.

Grupos de Microrganismos	Tratamentos*					
	F3		F3A		F3B	
	T1	T2	T1	T2	T1	T2
Estafilococos-coagulase positiva (log/g)	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0
Clostrídios sulfito redutores (log/g)	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0
Salmonella spp. (Aus./Pres.)	Aus.	Aus.	Aus.	Aus.	Aus.	Aus.
Coliformes Totais (log/g)	2,28	4,78	2,48	3,08	2,54	2,30
E. coli (log/g)	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0

UFC/g: Unidade formadora de colônia por grama

AUS.: Ausente em 25 gramas.

T1: Tempo inicial – para os tratamentos F3 e F3A corresponde ao período antes da fermentação**; T2:** Tempo final – para F3 e F3A corresponde ao período após a fermentação (seis dias após o preparo). n=3.

***F3** - 90% de carne de frango e 10% *okara,* fermentado com *L. acidophilus* CRL 1014;

F3A - 90% de carne de frango, 10% *okara,* e 75mg/kg nitrito, fermentado com *L. acidophilus* CRL1014;

F3B - 90% de carne de frango, 10% *okara* e 150mg/kg nitrito, não fermentado.

Considerando os padrões microbiológicos estabelecidos pela legislação brasileira, todos os "hambúrgueres" processados no presente estudo apresentam-se adequados para o consumo, não sendo constatada variação entre o tempo inicial e final na população de microrganismos pertencentes aos seguintes grupos: estafilococos coagulase-positiva, clostrídios sulfito-redutores, *Salmonella* spp. e *E.*

coli. Em relação ao grupo coliformes totais verificou-se aumento de dois ciclos logarítmicos para o “hambúrguer” fermentado sem adição de sais de cura (F3) e de um ciclo logarítmico para o fermentado com redução de 50% na concentração de sais de cura (F3A).

O ácido lático produzido pelas culturas *starters* durante a fermentação causa redução do pH, resultando em alteração na homeostase e inibição da multiplicação de diferentes microrganismos patogênicos (*Staphylococcus aureus, Clostridium* spp*., Salmonella* spp.) e deteriorantes (*Pseudomonas* spp.).[19] Em adição, algumas culturas *starters* são capazes de produzir bacteriocinas e outros compostos antibacterianos que auxiliam na conservação do produto.[14,27]

O nitrito adicionado a produtos cárneos é particularmente importante no início do processo de fermentação para inibir a multiplicação de microrganismos, como *Clostridium* spp., uma vez que o pH da mistura ainda não foi suficientemente reduzido. O nitrito, na forma de ácido nitroso (HNO_2), é capaz de ultrapassar a barreira da parede celular bacteriana e alterar o seu metabolismo, impedindo assim o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis.

Os resultados desse estudo indicam que o processo fermentativo foi capaz de inibir a multiplicação de microrganismos dos grupos estafilococos coagulase-positiva, clostrídios sulfito-redutores, *Salmonella* spp. e *E.coli*, nos tratamentos com redução na concentração de sais de cura e sem a adição desses

conservantes. Por outro lado, a fermentação não foi suficiente para controlar o crescimento de microrganismos do grupo coliformes totais.

Vários trabalhos têm sido realizados com o objetivo de estudar o efeito de culturas probióticas na conservação de produtos cárneos. Pidcock et al.,[30] concluíram que culturas *starters* comerciais de *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus paracasei* e *Bifidobacterium lactis* conferem segurança a um embutido cárneo, atuando na inibição de *Listeria monocytogenes* e de *E. coli* O:111. Dicks et al.,[14] produziram um embutido com carne de avestruz utilizando culturas *starters* bacteriocinogênicas de *Lactobacillus plantarum* e *Lactobacillus curvatus* e comprovaram o excelente potencial destas culturas no controle da multiplicação de microrganismos patogênicos. Muthukumarasamy & Holey[27] verificaram que a utilização de *Lactobacillus reuteri* ATCC55730 e *Bifidobacterium longum* ATCC15708 como culturas *starters* reduz a população de *Escherichia coli* O157:H7 durante a produção de salame.

3.4 Análise Sensorial

3.4.1 Aceitação dos diferentes produtos

As culturas probióticas ideais para uso em alimentos cárneos fermentados são aquelas que não interferem negativamente nas propriedades tecnológicas e sensoriais dos produtos.[1] Vários estudos concluíram que a utilização de culturas probióticas de *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium*

lactis não prejudicam as características de sabor e aroma de produtos cárneos fermentados.[2,30,1]

Os diferentes tratamentos foram submetidos a uma análise de aceitação e os resultados obtidos são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Médias dos atributos sensoriais avaliados pela equipe de julgadores.

Tratamentos*	Médias				
	Cor	Aroma	Textura	Sabor	Impressão global
F 3	7,0 [a] ±1,6	7,2 [a] ±1,4	6,6 [b] ±1,8	7,1 [a] ±1,6	6,9 [a] ±1,5
F 3A	7,4 [a] ±1,4	7,1 [a] ±1,5	6,6 [b] ±1,9	7,0 [a] ±1,4	7,1 [a] ±1,3
F 3B	7,5 [a] ±1,2	7,0 [a] ±1,6	7,6 [a] ±1,2	7,0 [a] ±1,2	7,4 [a] ±1,1

Letras diferentes na mesma coluna indicam que houve diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de médias de Tukey (p>0,05). n=60 julgadores

***F3** - 90% de carne de frango e 10% *okara,* fermentado com *L. acidophilus* CRL 1014;

F3A - 90% de carne de frango, 10% *okara,* e 75mg/kg nitrito, fermentado com *L. acidophilus* CRL1014;

F3B - 90% de carne de frango, 10% *okara* e 150mg/kg nitrito, não fermentado.

Os “hambúrgueres” apresentaram médias elevadas para todos os atributos avaliados, sem diferirem significativamente entre si em relação à cor, ao aroma, ao sabor e à impressão global (p>0,05). Por outro lado, o produto não fermentado com adição de sais de cura (F3B) exibiu a melhor aceitação para o atributo textura, diferindo significativamente dos demais processamentos (F3 e F3A, p>0,05). Esse resultado sugere que o processo fermentativo altera a textura dos “hambúrgueres”, provavelmente devido à redução do pH e consequente diminuição da capacidade de retenção de água após o cozimento.

Macedo et al.,[25] analisaram sensorialmente embutidos com a adição de diferentes culturas probióticas de *Lactobacillus casei, Lactobacillus paracasei* ssp*. paracasei e Lactobacillus casei* ssp*. rhamnosus*. O embutido adicionado de *Lactobacillus paracasei* apresentou características sensoriais bem apreciadas pelos julgadores, exibindo as maiores médias para textura e cor. O produto apresentou também um sabor ácido pronunciado, confirmado por determinações de pH e acidez.

Entre os fatores que contribuem para as características sensoriais de produtos fermentados destacam-se: tipo de matéria-prima, condimentos, cultura iniciadora e adição de sais de cura. O ácido lático e os produtos resultantes da ação de enzimas proteolíticas e lipolíticas são os principais responsáveis pelo *flavor* típico dos produtos cárneos fermentados.[37]

Em relação à utilização do *okara* em produtos cárneos, Turan et al.,[42] verificaram que a aceitação das amostras diminuiu significativamente ($p<0,05$) quando a adição de farinha de *okara* foi superior a 7,5%. Das et al.,[10] elaboraram "hambúrgueres" de carne de caprino com teor reduzido de gordura, preparados com 0%, 15%, 20% e 25% de *okara*, na forma úmida. Os resultados revelaram que a estabilidade da emulsão diminuiu com aumento do nível de *okara*. Os "hambúrgueres" com 15% de *okara* apresentaram maior aceitação para os atributos sabor, suculência e aceitação global em comparação ao controle. Os autores concluíram que o *okara* pode ser utilizado em substituição à carne em concentrações de até 15% nos "hambúrgueres" de caprino, sem afetar a qualidade

sensorial e a aceitabilidade dos produtos. No presente estudo, a concentração de *okara* não variou entre as formulações, e assim, não interferiu diretamente na menor aceitação dos produtos fermentados em relação ao atributo textura.

3.4.2 Atitude de compra

A Figura 4 apresenta os resultados da avaliação da atitude dos julgadores em relação à compra das três formulações de “hambúrgueres” de carne de frango e *okara*.

Conforme se pode observar, para o produto contendo 90% de carne de frango, 10% de farinha de *okara* e fermentado com *L. acidophilus* CRL 1014 (F3), a maioria dos julgadores respondeu que “provavelmente compraria” (48%), “certamente compraria” (18%), ou que tinha dúvidas a respeito da compra do produto (19%). Na formulação contendo 90% de carne de frango, 10% de farinha de *okara*, 75mg/kg de nitrito e fermentada com *L. acidophilus* CRL 1014 (F3A), a maioria dos julgadores respondeu que “provavelmente compraria” (45%) ou “certamente compraria” o produto (27%). A formulação não fermentada contendo 90% de carne de frango, 10% de farinha de *okara* e 150mg/kg de nitrito (F3B) foi a mais bem avaliada em relação à intenção de compra, com cerca de 45% dos julgadores respondendo que “provavelmente comprariam” e 35% que “certamente comprariam” o produto.

Entre as possíveis justificativas para a melhor performance da amostra não fermentada em relação à intenção de compra destacam-se: a melhor textura do produto, verificada no teste de aceitação e o fato de tal formulação se assemelhar a um hambúrguer de carne de ave convencional, disponível no mercado. Cabe destacar que apesar dos julgadores não estarem habituados ao consumo de "hambúrguer" fermentado, as formulações processadas com *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014 apresentaram características sensoriais adequadas, com chances potenciais de serem industrializadas no futuro.

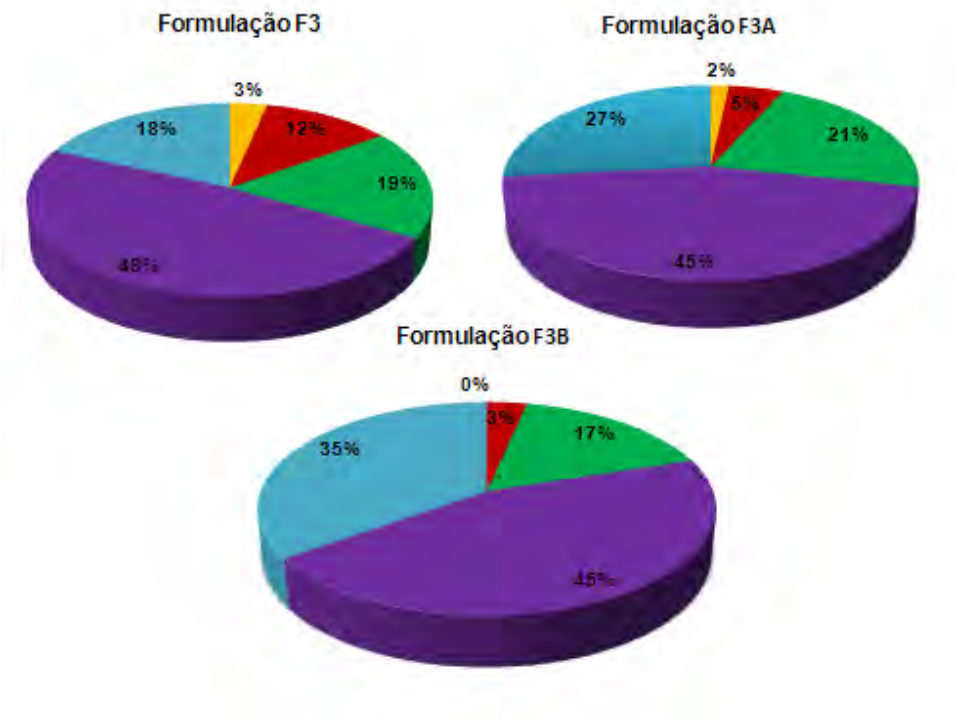

Figura 4: Intenção de compra em relação aos diferentes "hambúrgueres".

***F3** - 90% de carne de frango e 10% *okara,* fermentado com *L. acidophilus* CRL 1014;

F3A - 90% de carne de frango, 10% *okara,* e 75mg/kg nitrito, fermentado com *L. acidophilus* CRL1014;

F3B - 90% de carne de frango, 10% *okara* e 150mg/kg nitrito, não fermentado.

- Eu certamente não compraria este produto
- Eu provavelmente não compraria este produto
- Eu tenho dúvidas se compraria ou não este produto
- Eu provavelmente compraria este produto
- Eu certamente compraria este produto

4 CONCLUSÃO

A utilização de *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014 como cultura *starter* na produção de "hambúrguer" misto de carne de frango e *okara* se mostrou viável, pois permitiu a obtenção de um produto seguro, com características físico-químicas e sensoriais adequadas e livre de sais de cura.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMMOR, M.; MAYO, B. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An up date. **Meat Sci**., v. 76, n. 1, p. 138-146, 2007.

2. ANDERSEN, L. Fermented dry sausages produced with the admixture of probiotic cultures. In: INTERNATIONAL COMMITMENT OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 44th, 1998, Barcelona: **Anais**… Barcelona: Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentaries, 1998. p. 826-827.

3. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official Methods of Analysis, 15th ed., Washington, DC, 1995.

4. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. METHOD 991.14: Official methods of analysis of AOAC International. 17th ed. Gaithersburg: AOAC International, p. 2-22, 2000.

5. BRASIL. Ministério da Agricultura de Agropecuária e Abastecimento. Métodos analíticos para controle de produtos cárneos e seus Ingredientes - Métodos físico-químicos. Instrução Normativa nº 20. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 09 set. 1999.

6. BRASIL. Ministério da Agricultura de agropecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 20. Regulamento técnico de identidade e qualidade do hambúrguer. **Diário Oficial da União**, DF, 3 ago. 2000.

7. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 12. Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2 jan. 2001.

8. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 2. Regulamento técnico de substâncias bioativos e probióticos isolados com alegação de propriedades funcional e ou de saúde. **Diário Oficial da União,** Brasília, 09 jan. 2002.

9. CASABURI, A.; et al. Technological activities of *Staphylococcus carnosus* and *Staphylococcus simulans* strains isolated from fermented sausages. **Meat Sci**., v. 71, p. 643-650, 2005.

10. DAS, A. K. et al. Full-fat soy paste on quality of goat meat patties. **Food Sci Technol**, v. 44, n. 3, p.323-326, 2007.

11. DE LA MONTE, S. M. et al. Epidemiological trends strongly suggest exposures as etiologic agents in the pathogenesis of sporadic Alzheimer's disease, diabetes mellitus and non-alcoholic steatohepatitis. **J. Alzheimer's Dis.**, v.17, p.519-529, 2009.

12. DEUMIERA, F.; COLLIGNAN, A. The effects of sodium lactate and starter cultures on pH, lactic acid bacteria, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella spp*. levels in pure chicken dry fermented sausage. **Meat Sci**., n.65, p. 1165–1174, 2003.

13. DE VUYST, L.; FALONY, G.; LEROY, F. Probiotics in fermented sausages. **Meat Sci**., v. 80, p. 75-78, 2008.

14. DICKS, L. M. T.; MELLET, F. D.; HOFFMAN, L. C. Use of bacteriocin producing starter cultures of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus curvatus* in production of ostrich meat salami. **Meat Sci.**, v.66, p.703-708, 2004.

15. DOWNES, F. P.; ITO, K (Ed.). Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4th ed. Washington: American Public Health Association (APHA), 2001.

16. FARIA, E. V; YOTSUYANAGI, K. Técnica de análise sensorial, 2. ed. Campinas: ITAL, 2008, 120p.

17. FUCHS, R. H. B. et al. "logurte" de soja suplementado com oligofrutose e inulina. **Ciên. Tecnol. Alim.**, v.25, p. 175-181, 2005.

18. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**: métodos químicos e físicos para análises de alimentos. 4. ed. São Paulo: O Instituto, 2005. 2017p.

19. JAY, J. M. Microbiologia de alimentos. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711p.

20. KLINGBERG, T. D. et al. Identification of potential probiotic starter cultures for Scandinavian-type fermented sausages. **Inter. J. Food Microbiol**., v.105, p.419–431, 2005.

21. LAROSA, G.; ROSSI, E. A.; BARBOSA, J. C.; CARVALHO, M. R. B. Aspectos sensoriais, nutricionais e tecnológicos de biscoito doce contendo farinha de 'okara'. **Alim. Nutr**., Araraquara, v.17, n.2, p.151-157, abri./jun. 2006.

22. LEISTNER, L. Microbiologia durante a fermentação e maturação de produtos crus. In: SILVA, R. Z. M. (Ed.) Aplicação da biotecnologia em produtos cárneos. Campinas: ITAL, 1990. p.127-150.

23. LÍRIO, V. S. et al. Freqüência de 17 sorotipos de *salmonella* isoladas em alimentos. **Hig. Alim.**, v.55, p.36- 42, 1998.

24. LÜCKE, F. Utilization of microbes to process and preserve meat. **Meat Sci**., Barking, v.56, p.105 – 115, 2000.

25. MACEDO, R. E. F. et al. Desenvolvimento de embutido fermentado por *Lactobacillus* probióticos: características de qualidade. **Cienc. Tecnol. Alim**., v.28, n.3, p. 509-519, 2008.

26. MIGUEL, D. P. **Desenvolvimento de sorvete de "iogurte" simbiótico a base de extrato aquoso de soja e de yacon (*Smallanthus sonchifolius)* fermentado com *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014**. 2009. 117f. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara/UNESP, Araraquara, 2009.

27. MUTHUKUMARASAMY, P.; HOLLEY, R.A. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in dry fermented sausages containing micro-encapsulated probiotic lactic acid bacteria. **Food Microbiol.**, v.24, p.82-88, 2007.

28. PARDI, M. C. et al. Ciência, higiene e tecnologia da carne: tecnologia da carne e subprodutos, processamento tecnológico. Goiânia: UFG, 1993. 1110p.

29. PAPAMANOLI, E. et al. Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry fermented sausage inrespect of their technological and probiotic properties. **Meat Sci.**, v. 65, p. 859-867, 2003.

30. PIDCOCK, K.; HEARD, G. M.; HENRIKSSON, A. Application of nontraditional meat starter cultures in production of Hungarian salami. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 76, p. 75-81, 2002.

31. PRANDL, O. et al. **Tecnologia y higiene de la carne.** Zaragoza : Acribia, 1994. 854p.

32. ROSS, R. P.; MORGAN, S.; HILL, C. preservation and fermentation: past, present and future. **Int. J. Food Microbiol.**, v.70, p.3-16, 2002.

33. ROSSI, E. A. et al. In vitro effects of *Enterococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus* on cholesterol. **Microbiologie-Aliments-Nutr**., v. 12, p. 267-270, 1994.

34. SAMESHIMA, T. et al. Effect of intestinal *Lactobacillus* starter cultures on the behaviour of *Staphylococcus aureus* in fermented sausage. **Int. J. Food Microbiol**., v. 41, p. 1-7, 1998.

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

36. SEABRA, L. M. J. et al. Fécula de mandioca e farinha de aveia como substitutos de gordura na formulação de hambúrguer de carne ovina. **Cienc. Tecnol. Alim**., v. 22, n. 3, p. 244-248, 2002.

37. SEBRANEK, J. G.; BACUS, J. N. Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issues? **Meat Sci**., v. 77, p. 136-147, 2007.

38. SMULDERS, F. J. M. et al. Review: lactic acid: considerations in favour of its acceptance as a meat decontamininant. **J. Food Technol**., v. 21, p. 419-436, 1986.

39. STONE, H.; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices**. 2. ed. London: Academic Press, 1993. 338p.

40. TOMPKIN, R. B. Nitrite. In: DAVIDSON, P. M.; SOFOS, J. N.; BRANEN, A. L. (Ed.). Antimicrobials in food 3rd ed. Boca Raton: CBC Press, 2005.

41. TURHAN, S.; TEMIZ, H.; SAGIR, I. Utilization of wet *okara* in low-fat beef patties. **J. Muscle Foods**, v. 18, p. 226-235, 2007.

42. TURHAN, S.; TEMIZ, H.; SAGIR, I. Characteristics of beef patties using *okara* powder. **J. Muscle Foods**, v. 20, p. 89–100, 2009.

43. VERLUYTEN, J.; MESSENS, W.; VUYST, L. D. The curing agent sodium nitrite, used in the production of fermented sausages, is less inhibiting to the bacteriocin-producing meat starter culture *Lactobacillus curvatus* LTH 1174 under anaerobic conditions. **Appl. Environm. Microbiol.**, v.69, p.3833-3839, 2003.