

Atividade do *Lactobacillus plantarum* na preservação da anchoita (*Engraulis anchoita*) fermentada

Activity of *Lactobacillus plantarum* on the fermented anchoita (*Engraulis anchoita*) preservation

RIALA6/1278

Nádia CARBONERA*, Milton Luiz Pinho ESPÍRITO SANTO

*Endereço para correspondência: Laboratório de Controle de Qualidade de Alimentos - Escola de Química e Alimentos - Universidade Federal do Rio Grande, Campus Cidade, Rua Engº Alfredo Huch, 475, Caixa Postal 474 - CEP: 96201-900 - Rio Grande - RS - Brasil Telefone: (53) 3233-8745. e-mail: nadiacarbonera@yahoo.br

Recebido: 05.04.2010 - Aceito para publicação: 20.05.2010

RESUMO

A anchoita (*Engraulis anchoita*) foi utilizada para a elaboração de um produto fermentado com qualidade sensorial e segurança do alimento. A mistura (pescado - NaCl - glicose) foi empregada para avaliar os fatores que aceleram a fermentação láctica, o decréscimo do pH e a multiplicação das bactérias lácticas, com redução dos micro-organismos deterioradores. A contagem inicial de bactérias aeróbias viáveis foi de 7,1 Log UFC g⁻¹ e seu aumento ocorreu até o 7º dia de fermentação; posteriormente, houve redução gradual até o final do processo (28º dia) para 6,2 Log UFC g⁻¹ quando foram adicionados NaCl a 1,5% e glicose a 6,0%. As bactérias formadoras de ácidos predominaram sobre as deterioradoras durante todo o período de fermentação em um ciclo logarítmico. A glicose foi fermentada rapidamente, mas a redução do pH (3,9) foi lenta para o pescado suplementado com 6,0% de glicose e 1,5% de NaCl. A acidez titulável (% ácido láctico), após 28 dias de fermentação, atingiu 3,7% e 3,4% quando foram adicionados 6,0% e 4,0% de glicose. A inoculação do *Lactobacillus plantarum* manteve a qualidade microbiológica do produto; as bactérias deterioradoras se reduziram significativamente.

Palavras-chave. pescado fermentado, anchoita, bactérias lácticas, *Lactobacillus plantarum*.

ABSTRACT

Anchoita (*Engraulis anchoita*) was used to prepare a fermented product with sensorial quality and food safety. A mixture (fish, NaCl, glucose) was employed to evaluate the factors which help to speed up the lactic fermentation, pH decrease and lactic bacteria multiplication, and reducing the deteriorant microorganisms. At first, the viable aerobic bacteria counts were 7.1 Log CFU g⁻¹; thereafter an increase in counting was observed until the 7th day of fermentation which gradually decreased to 6.2 Log CFU g⁻¹ until the end of the process (28th day) when 1.5% NaCl and 6.0% glucose were added. The lactic acid bacteria predominated over the deteriorant microorganisms during the whole fermentation period at one logarithmic cycle. The glucose was quickly fermented, although the pH decreased (3.9) slowly for the fish supplemented with 6% glucose and 1.5% NaCl. The total titratable acidity (% lactic acid) after 28 days of fermentation came to 3.7% and 3.4%, when 6.0% and 4% of glucose were added. The inoculation of *Lactobacillus plantarum* maintained the microbiological quality of the product; the deteriorant bacteria decreased significantly.

Key words. fermented fish, anchoita, lactic bacteria, *Lactobacillus plantarum*.

INTRODUÇÃO

Um fator essencial e limitante na utilização do pescado para o consumo é a sua extrema perecibilidade aliada a processos autolíticos oriundos de atividades enzimáticas e bacterianas desenvolvidas durante o processamento e o armazenamento¹. Abre-se, então, a necessidade de se desenvolver alternativas de conservação para que, aliadas às tecnologias existentes, seja possível disponibilizar para população alimentos com qualidade e segurança alimentar sob o ponto de vista microbiológico e toxicológico².

A introdução da fermentação anaeróbica, associada às bactérias lácticas, é capaz de interromper temporariamente ou definitivamente os processos bioquímicos oxidativos e a deterioração microbiana³.

Bactérias lácticas constituem um grupo de microorganismos amplamente distribuídos na natureza, produtores de uma variedade de compostos antimicrobianos, incluindo: ácidos orgânicos, diacetil, peróxido de hidrogênio, dióxido de carbono, álcool, aldeído e bacteriocinas. Todos esses compostos podem contribuir para a inibição de bactérias deterioradoras e patogênicas presentes nos alimentos^{3,4,5}.

Os cultivos iniciadores produtores de ácido láctico são fundamentais na produção de alimentos cárneos fermentados. A partir de carboidratos presentes ou adicionados na massa cárnea, essas culturas produzem ácido láctico, com conseqüente redução do pH, aumento da acidez titulável e solubilização proteica⁶.

As proteínas do pescado, quando comparadas com as de outros animais, apresentam conservação quase sempre acompanhada de difícil contenção das alterações deterioradoras⁷. Entretanto, quando essas transformações são controladas passam a ser benéficas produzindo um *flavour* apropriado, mascarando o sabor indesejável de algumas espécies e aumentando a aceitabilidade de outras⁸.

Na América do Sul, países como Peru, Chile e Argentina desenvolveram fermentações de anchovetas (*Pomatomus saltator*), nas quais os peixes são misturados com NaCl na proporção de 30% e processados por fermentações que podem durar até 4 meses⁹. É apropriado considerar que culturas iniciadoras poderão ser incluídas na elaboração de novos produtos fermentados a partir de outras espécies de pescado. A anchoita salgada maturada de forma convencional ou produzida com a adição de cultivos iniciadores é apenas um dos exemplos destas variáveis¹⁰.

A anchoita (*Engraulis anchoita*) é uma espécie alternativa, oriunda de um estoque virgem na costa brasileira com possibilidade de uma exploração sustentável.

Embora uma grande biomassa esteja disponível de forma sazonal, os estoques desta espécie são subutilizados como recurso pesqueiro. No entanto, este recurso poderá tornar-se uma alternativa frente ao esgotamento da maioria das capturas tradicionais da região^{11,12,13}.

A importância da utilização desta espécie como matéria-prima se prende ao fato de que, no Brasil, é um recurso ainda não utilizado para o consumo humano. Ao mesmo tempo, favorece o estudo para a obtenção de um produto pouco difundido e não processado industrialmente de forma significativa¹⁴.

Assim, no Brasil, deve-se constituir uma tendência, a elaboração de produtos alternativos com estas espécies. Neste contexto, iniciativas para a abertura de novos mercados, principalmente o interno, favoreceriam o desenvolvimento de produtos derivados deste pelágico¹⁵.

Este trabalho avaliou a atividade do *Lactobacillus plantarum* e o seu efeito na fermentação da anchoita, com particular referência para o seu antagonismo em relação às bactérias deterioradoras envolvidas neste processamento.

MATERIAL E MÉTODOS

Matéria-prima

O estudo foi desenvolvido utilizando a anchoita (*Engraulis anchoita*) capturada pelo navio oceanográfico Atlântico Sul pertencente à Universidade Federal do Rio Grande/RS, Brasil. O pescado foi mantido sob condições adequadas com gelo em escamas a 0°C até o momento de ser transferido para o seu processamento. Para o desenvolvimento dos experimentos, não foi levado em consideração fatores fisiológicos e diferenças anatômicas relacionadas com a espécie. Houve o cuidado somente na escolha de exemplares adultos com tamanho superior a 15 cm.

Cultivo iniciador

O cultivo iniciador utilizado foi a cepa *Lactobacillus plantarum* adquirida do laboratório de microbiologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo - FCF/USP, Brasil.

Ativação e preparação do cultivo iniciador

O inóculo utilizado como cultivo iniciador foi obtido a partir da cepa do *L. plantarum* reativada em caldo MRS com incubação a 30°C durante 18 horas. A seguir,

foi executada a ressuspensão de uma alíquota de 5mL em 200mL do mesmo caldo e novamente incubada a 30°C por 12 horas. Posteriormente ao desenvolvimento da cultura, porções de 10 mL equivalentes a 10^8 UFC mL⁻¹ foram transferidas para as cubas de fermentação¹⁶.

Curva de crescimento do *L. plantarum*

A fermentação do cultivo iniciador foi monitorada durante 30 horas a 30°C. As amostras foram coletadas em frascos estéreis a cada 2 horas. Uma alíquota de 10 mL de cada amostra foi utilizada para a determinação da concentração da cultura. Várias diluições seriadas foram executadas utilizando água peptonada 0,1% e semeadas em ágar MRS, com incubação a 30°C, por 48 horas. Concomitantemente, alíquotas de 10 mL foram utilizadas para a determinação da concentração celular do inóculo através de espectrofotometria a 520 nm. Todas as alíquotas utilizadas para as leituras de absorbância foram centrifugadas a 9,77 x g/10 min. O sobrenadante foi descartado e o precipitado ressuspenso em 3 mL de água peptonada 1% adicionada de 3 mL de solução de EDTA 1% e alcalinizada com NaOH 10M¹⁷.

Fermentação da anchoita

O pescado, após o recebimento, foi inspecionado, selecionado e lavado em lavador rotativo. Posteriormente, foi descabeçado, eviscerado, novamente lavado e pesado. Os tratamentos foram desenvolvidos de forma independente, variando-se apenas um dos parâmetros operacionais (cloreto de sódio ou glicose). Os experimentos foram executados utilizando proporções equivalentes a 1,0 e 1,5% NaCl e 4,0 e 6,0 glicose p/p em relação ao pescado eviscerado a ser fermentado. Em todos os tratamentos foram adicionados inóculos de *L. plantarum* correspondentes a 8,0 Log₁₀ UFC.mL⁻¹. As anchoitas foram salgadas previamente através de uma salga seca durante 24 horas a 4°C e posteriormente fermentadas a 23 ± 1°C durante 28 dias.

Avaliações microbiológicas

Alíquotas de 25 g de amostra, incluindo o controle, foram coletadas durante 7, 14, 21 e 28 dias, homogeneizadas com 225 mL de água peptonada 0,1% e diluídas serialmente em escala decimal. A enumeração das bactérias lácticas foi realizada pelo método de

plaqueamento em profundidade em ágar MRS, utilizando as placas invertidas e foram incubadas a 30°C por 24 horas¹⁸. A contagem de micro-organismos aeróbios viáveis foi realizada pelo método do plaqueamento em profundidade em ágar de contagem *Plate Count Agar*. Após a inoculação e solidificação do meio, as placas foram invertidas e incubadas a 37°C por 48 horas¹⁸.

Análises físico-químicas

A medição do pH foi realizada homogeneizando-se 10 g de amostra com água destilada (1:10). O homogeneizado foi submetido ao eletrodo do pHmetro DM 22/Digimed por 2 minutos e procedido sua leitura¹⁹.

Usando o mesmo homogeneizado preparado para a determinação do pH, a acidez total titulável foi determinada por método titulométrico utilizando NaOH 0,1N. Os resultados foram expressos como ácido láctico (% p/p)¹⁹.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Curva de crescimento do *L. plantarum*

A curva de crescimento e a densidade óptica (520 nm) do *L. plantarum* durante a fermentação são apresentadas na Figura 1. A fermentação com concentração média inicial de células viáveis equivalente a 4,93 Log UFC.mL⁻¹ alcançou o seu crescimento máximo em 26 horas e foi de 11,6 Log UFC.mL⁻¹. A densidade óptica, por equivalência, atingiu um valor máximo de 2,01 nm após este mesmo tempo de fermentação.

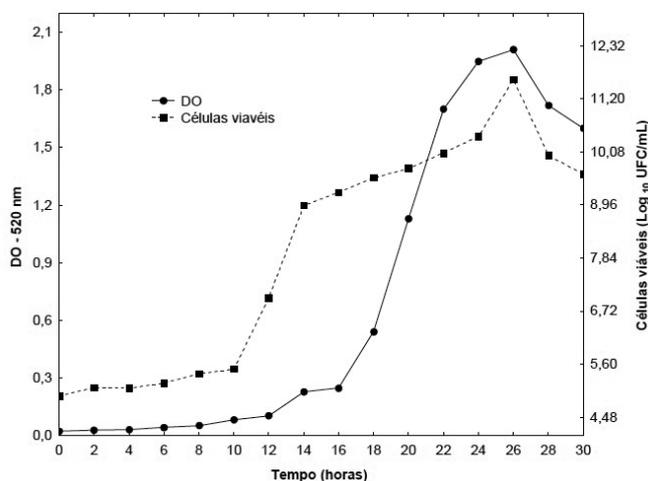


Figura 1. Curva de crescimento e densidade óptica a 520 nm do *L. plantarum*

Esses resultados são muito semelhantes aos encontrados por Campagno et al²⁰ que, ao utilizarem um meio de cultura adicionado com plasma suíno como fonte de nitrogênio, encontraram um crescimento máximo de 9,82 Log UFC.mL⁻¹ após 30 horas de fermentação. Outros trabalhos (González et al²¹) relacionados com processos fermentativos utilizando o *L. plantarum* LL441 cultivado em caldo MRS, com 5 horas de fermentação a 30°C, apresentaram uma variação relacionada com a densidade ótica de 0,4 a 1,4 nm. A leitura no espectrofotômetro foi realizada a 520 nm. Lewus et al²² estabeleceram uma curva de crescimento para *L. plantarum* BN utilizando caldo ATP (All Purpose Tween) a 30°C, com leitura espectrofotométrica a 660 nm. Após 4 horas de inoculação da cepa no caldo, a densidade ótica encontrava-se em 0,1 nm, passando a 1,1 nm com 20 horas de fermentação. Mazo²³ cultivou *L. plantarum* BN usando como substrato o melão de cana-de-açúcar por 24 horas e encontrou um crescimento máximo de 10,74 Log UFC.mL⁻¹ após 16 horas de fermentação. Utilizando uma leitura a 520 nm, o valor máximo para a absorbância foi 0,54 nm após 18 horas de fermentação.

Antagonismo bacteriano do *L. Plantarum*

A atividade antagônica do *L. plantarum* pode ser observada na Figura 2A e B, respectivamente. As bactérias lácticas apresentaram atividade inibidora sobre os micro-organismos deterioradores. Considerando a carga inicial dos micro-organismos aeróbios viáveis (10⁷ UFC g⁻¹), ocorreu um aumento desta contagem nos primeiros 7 dias de fermentação (10⁸ UFC g⁻¹) e, decresceu gradualmente até atingir 10⁶ UFC g⁻¹ no término do experimento (28 dias) para todas as amostras. A rapidez e a eficiência da fermentação foram monitoradas pela relação entre o decréscimo do pH e a enumeração das bactérias lácticas relacionadas com as bactérias deterioradoras. A queda do pH foi devida a produção de ácido láctico pelos lactobacilos, o que não descarta a possibilidade de produção de outros ácidos orgânicos formados por processos metabólicos oriunda de outros micro-organismos. De acordo com o ICMSF²⁴, nas fermentações anaeróbicas, muitos micro-organismos associados às infecções ou intoxicações alimentares não toleram a exclusão do oxigênio e a presença do CO₂. Ijong e Ohta²⁵ também não obtiveram resultados superiores aos encontrados neste trabalho referente às variações na inibição dos micro-organismos deterioradores. Estes pesquisadores, em trabalho semelhante com molho de pescado fermentado, utilizaram

glicose e NaCl em quantidades variáveis entre 100 g kg⁻¹ e 200 g kg⁻¹, respectivamente.

A contagem de bactérias lácticas a partir do sétimo dia e até o vigésimo oitavo dia de fermentação excedeu a contagem dos micro-organismos deterioradores de 1 Log UFC.g⁻¹. Assim, a relação de fermentação foi maior em todos os tratamentos se considerarmos a utilização de 6% glicose.

Vários autores relatam que a acidificação e as condições anaeróbicas durante a maturação de salsichas de pescado fermentado inibem o crescimento de micrococos²⁶.

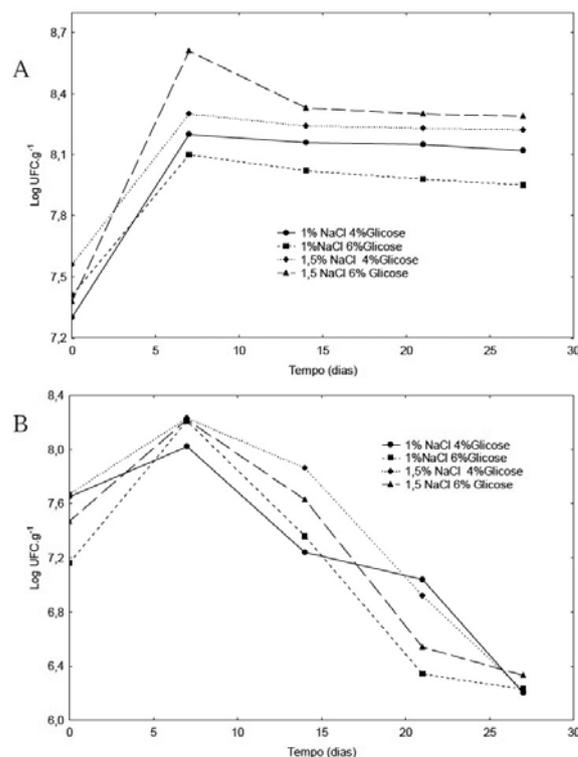


Figura 2. Variação das bactérias lácticas (A) e de micro-organismos aeróbios viáveis (B) durante o processo de fermentação da anchoita pelo *L. plantarum* envolvendo a adição de 1,5 e 2% NaCl e 4 e 6% glicose

Mah et al⁸ relataram que contagens de enterococos em produtos elaborados a base de pescado fermentado foram significativamente inferiores após a inclusão de cultivos iniciadores no processamento. Os resultados também foram semelhantes àqueles obtidos pela adição de cultivos iniciadores utilizando a fermentação de cavala²⁷.

Lee et al²⁸ também observaram que a inoculação de *L. plantarum* em embutido fermentado a base de pescado inibiu o crescimento de micro-organismos deterioradores.

Esta bactéria apresentou características homofermentativa e acidificante e com habilidade para a redução do pH.

Em trabalho semelhante, *L. plantarum* foi inoculado no músculo cominutado de pescado para produzir um produto fermentado. Durante a fermentação de 48 horas a 30°C, resultou uma rápida diminuição do pH e uma inibição de bactérias deterioradoras e patogênicas. Este estudo mostrou que a adição de uma cultura iniciadora melhorou substancialmente o sabor, a digestibilidade e o valor nutricional do alimento a base de pescado²⁹.

O NaCl tem um efeito negativo, ao criar condições desfavoráveis para o crescimento das bactérias lácticas, interferindo na redução do pH; justifica-se assim o emprego de baixas concentrações de NaCl nos diferentes tratamentos associados à fermentação da anchoita. No estudo desenvolvido por Morzel et al³⁰, o efeito negativo começou a ser observado na mais baixa concentração de NaCl (10 g kg⁻¹) e, se fosse considerada somente a otimização do pH relacionado com o crescimento bacteriano, os parâmetros mais adequados seriam equivalentes a 5 g kg⁻¹ glicose e temperatura de incubação de 20°C.

Avaliação do pH e acidez

As alterações do pH e acidez desenvolvidas durante a fermentação são apresentadas na Figura 3A e B, respectivamente. Na medida em que o processo se desenvolveu, houve redução do pH com tendência a estabilização entre 3,8 e 4,1 aos 28 dias de fermentação (Figura 2A). Este comportamento está relacionado com as concentrações de 4,0 e 6,0% glicose e 1,0 e 1,5% NaCl. O efeito da redução do pH sugere como causa a produção de ácido láctico, inibindo a multiplicação dos micro-organismos deterioradores ao mesmo tempo que permite a sequência do processo de fermentação. Os resultados apresentados indicam que a rápida fermentação do substrato foi executada da maneira como se esperava. Uma possível razão para a redução da velocidade da fermentação poderá ser representada pelas dificuldades criadas em função da capacidade tampão destes substratos proteínicos ou a incapacidade associada à adaptação e multiplicação das bactérias lácticas envolvidas frente ao carboidrato fermentescível disponibilizado. A grande capacidade tampão destes substratos atuando na faixa de pH entre 5,0 e 6,0 poderá permitir a deterioração do pescado antes que ocorra uma produção suficiente de ácido láctico para auxiliar no processo antagônico nas primeiras 24 horas de fermentação. Considerando o tratamento com

6% glicose, o aumento da concentração de NaCl de 1 para 1,5% reduziu muito pouco a relação de fermentação. Com o emprego de 1% NaCl, o pH decresceu para 4,2 após 7 dias e atingiu 3,8 com 28 dias de fermentação. Com a presença de 1,5%, o resultado mostrou baixa fermentação durante os 7 primeiros dias; o pH se manteve em 4,3 após 7 dias e atingiu 3,8 em 28 dias de fermentação. Com a utilização de 4% glicose, a relação de redução do pH foi mais sensível. No mesmo período, com a utilização de 1% NaCl, o pH atingiu 4,3 e 4,0, respectivamente. Com 1,5% NaCl, o pH atingiu 4,4 após 7 dias e 4,1 com 28 dias de fermentação.

Os resultados obtidos são compatíveis com aqueles encontrados na pesquisa de Morzel et al³⁰. Os autores caracterizam a avaliação de cultivos iniciadores na fermentação de filés de salmão (*Salmo salar*). Nesta pesquisa foram definidos parâmetros de fermentação para avaliar a dependência do crescimento de micro-organismos deterioradores e patogênicos relacionados com a redução do pH através da adição, sob várias concentrações, de sacarose, NaCl e NaNO₂ em filés submetidos a várias temperaturas de conservação. O resultado mostrou que o maior potencial para a produção de ácido láctico foi obtido com 5% de sacarose. O aumento da concentração deste carboidrato não mostrou uma melhora significativa no processo de acidificação. Por outro lado, na produção do *bakasang*, um tradicional molho de pescado fermentado consumido na Indonésia, quando submetido a um controle de pH através da adição de NaCl (10 e 20%) e glicose (1 e 10%), apresentou redução do pH em todos os tratamentos empregados. Nos experimentos em que a glicose foi adicionada, houve um grande decréscimo do pH, contrário àquelas sem a adição deste carboidrato. A maior redução ocorreu quando foram utilizados 5% glicose e 10% NaCl, explicado por um possível envolvimento de lactobacilos com habilidade para fermentar a glicose e produzir ácido láctico²⁵.

Se considerarmos os processos fermentativos, a acidez resultante corresponde a ácidos orgânicos não dissociados, os quais possuem uma acentuada atividade antimicrobiana. Os resultados mostram não somente que a acidez aumenta com o teor de glicose adicionada e o tempo de fermentação, mas também é possível observar que a relação de acidificação aumenta com a redução do NaCl utilizado no processo de fermentação. A Figura 3B apresenta a produção de ácido láctico durante a fermentação da anchoita, reproduzindo os tratamentos associados a 4 e 6% glicose e 1,0 e 1,5% NaCl (p/p). Para o tratamento correspondente a adição de 6% glicose e 1,5% NaCl, a

acidez, após 28 dias de fermentação, apresentou o máximo valor de 3,7%. Com 6% de glicose e equivalente teor salino, atingiu 3,4%. Assim que quando se agrega 1,5% glicose e 6% NaCl, o pH reduziu para 4,1 em 7 dias e para 3,8 em 28 dias. Reciprocamente, a acidez aumentou para 1,21 e 2,55%, respectivamente. Com 4% glicose e 2% NaCl, o pH reduziu para 4,0 em 7 dias e 3,8 em 28 dias. Por sua vez, a acidez aumentou para 1,77% (7 dias) e 2,76% (28 dias).

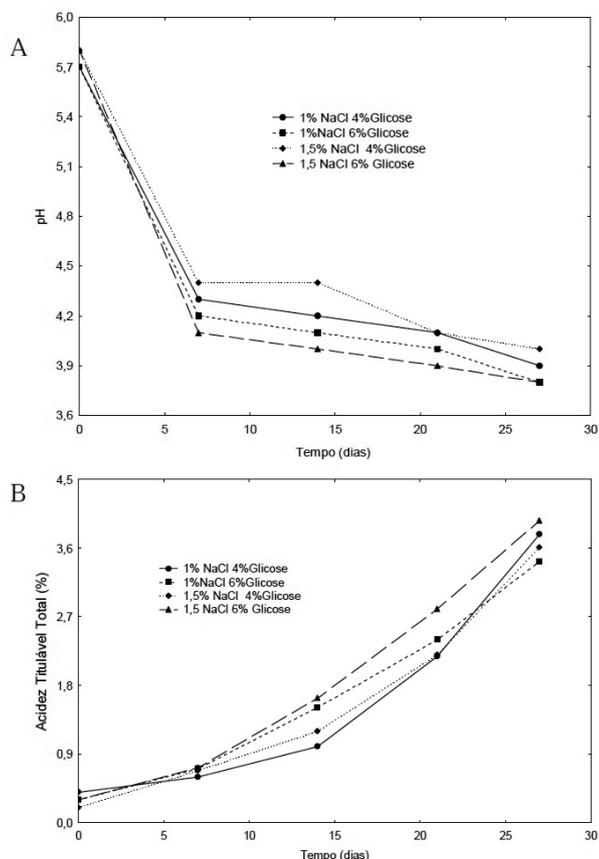


Figura 3. Variação do pH (A) e produção de ácido lático (B) durante a fermentação da anchoita pelo *L. plantarum* relacionada com 4 e 6% glicose. O efeito foi comparado através da adição de 1 e 1,5% NaCl (p/p)

Trabalhos similares envolvendo fermentações lácticas mostram que o comportamento do pH e acidez não são diferentes. Riebroy et al⁷, avaliando a produção de ácido lático como conservante de *Som-fug*, um pescado fermentado com adição de determinadas culturas iniciadoras, monitoraram a eficiência da fermentação pela relação do pH, acidez e balanço entre bactérias lácticas e deterioradoras, similar a este trabalho com anchoita fermentada. Os tratamentos aplicados, envolvendo cepas

comerciais (Lactostart) de *L. plantarum*, mostraram uma relação ótima de rebaixamento do pH com a adição de 5% sacarose (p/p). Anihouvi et al¹, examinando processos fermentativos com pescado e desenvolvido a temperatura ambiente (28°C a 30°C), utilizando bactérias lácticas empregadas em produtos lácteos, determinaram o final da fermentação quando a acidez (ácido láctico) atingiu 0,35% e o pH 7,0 após 10 dias de conservação. Com 4 dias de processamento, a acidez e o pH foram 0,33% e 7,0, respectivamente.

CONCLUSÃO

O estudo indica um grande efeito antagonístico do *L. plantarum* sobre a microbiota deterioradora no processo de fermentação da anchoita.

Com 28 dias de fermentação, a contagem das bactérias lácticas atingiu 10^8 UFC. g^{-1} , e a de bactérias deterioradoras apresentou uma redução de 1 ciclo logarítmico após um aumento desta microbiota nos primeiros 7 dias de fermentação. Este resultado mostra o efeito antagonístico preponderante desenvolvido pelo *L. plantarum*.

A fermentação da anchoita é passível de ser executada com o auxílio do *L. plantarum*. Durante este processo e com o auxílio da glicose (carboidrato fermentescível), esta cepa demonstrou uma significativa eficiência na redução do pH e aumento da acidez devido a produção de ácidos orgânicos e em maior expressão o láctico.

REFERÊNCIAS

1. Anihouvi VB, Sakyi-Dawson E, Ayernor GS, Hounhouigan JD. Microbiological changes in naturally fermented cassava fish (*Pseudotolithus* sp.) for lanhouin production. *Int J Food Microbiol*. 2007;116:287-91.
2. Schulz D, Bonelli RR, Batista CRV. Bacteriocinas e enzimas produzidas por *Bacillus* spp. para conservação e processamento de alimentos. *Alim Nutr*. 2005;16(4):403-11.
3. Muriana PM. Bacteriocins for control of *Listeria* spp. in food. *J. Food Prot. Supplement*. 1996;Suppl:54-63.
4. Cleveland J, Montville TJ, Nes IF, Chikindas ML. Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. *Int J Food Microbiol*. 2001;71:1-20.
5. Bromberg R, Moreno I, Delboni RR, Cintra HC. Características da bacteriocina produzida por *Lactococcus lactis* ssp. *hordniae* CTC 484 e seu efeito sobre *Listeria monocytogenes* em carne bovina. *Ciênc Tecnol Aliment*. 2006;26(1):135-44.

6. Yongjin H, Wenshui X, Xiaoyong L. Changes in biogenic amines in fermented silver carp sausages inoculated with mixed starter cultures. *Food Chem*. 2007; 104: 188-95.
7. Riebroy S, Benjakul S, Visessanguan W. Properties and acceptability of Som-fug, a Thai fermented fish mince, inoculated with lactic acid bacteria starters. *LWT*. 2008; 41: 569-80.
8. Mah JH, Hwang HJ. Inhibition of biogenic amine formation in a salted and fermented anchovy by *Staphylococcus xylosum* as a protective culture. *Food Contr*. 2009; 20:796-801.
9. Yeannes MI, Casales MR. Modifications in the chemical compounds and sensorial attributes of *Engraulis anchoita* fillet during marinating process. *Ciênc Tecnol Aliment*. 2008;28(4): 798-803.
10. Jiang JJ, Zeng QX, Zhu ZW, Zhang LY. Chemical and sensory changes associated Yu-lu fermentation process – A traditional Chinese fish sauce. *Food Chem*. 2007;104:1629-34.
11. Garcia-Torchelsen L, Treptow RO, Porciúncula BD, Queiroz MI. Caracterização do odor da anchoita (*Engraulis anchoita*) armazenada em gelo e água do mar. *Alim Nutr*. 2008; 19(3): 249-57.
12. Haimovici M, Martin AS, Vieira PC. Distribuição e abundância de peixes teleósteos demersais sobre a plataforma continental do sul do Brasil. *Rev Bras Biol*. 1997; 56(1): 27-50.
13. Castello L, Castello JP. Anchovy stocks (*Engraulis anchoita*) and larval growth in the SW Atlantic. *Fish Res*. 2003; 59: 409-21.
14. Lima ID, Castello JP. Distribución y abundancia de *Engraulis anchoita* en la costa sur de Brasil. *Frente Marit*. 1994;15: 87-100.
15. Pájaro M. Alimentación de la anchoita argentina (*Engraulis anchoita*) Hubbs y Marini, 1935) (Pisces: Clupeiformes) durante la época reproductiva. *Rev Invest Des Pesq*. 2002;15:111-25.
16. De Martinis ECP, Franco BDGM. Inhibition of foodborne by bacteriocin-producing *Leuconostoc* spand *Lactobacillus sake* isolated from “lingüiça frescal”. *Rev Microbiol*. 1997; 28(4):284-87.
17. Feltrin VP. Produção de *Lactobacillus plantarum* em meio de cultura à base de melaço de cana-de-açúcar. [dissertação de mestrado]. Florianópolis, Santa Catarina: Universidade Federal de Santa Catarina; 1997.
18. American Public Health Association - APHA. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3ª ed. Washington; 1992.
19. Association of Official Analytical Chemists - AOAC. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemistry. 16th.ed. Washington; 1997.
20. Campagno PCB, Martins Fries LL, Terra NN, Santos BA, Furtado AS. Salame elaborado com *Lactobacillus plantarum* fermentado em meio de cultura de plasma suíno. *Ciênc Tecnol Aliment*. 2007; 27(4):883-9.
21. González B, Arca P, Mayo B. Detection, purification, and partial characterization of plantaricin C, a bacteriocin produced by a *Lactobacillus plantarum* strain of dairy origin. *Appl Environ Microbiol*. 1994; 60:2158-63.
22. Lewus CB, Kaiser A, Montville TJ. Inhibition of food-borne bacterial pathogens by bacteriocins from lactic acid bacteria isolated from meat. *Appl Environ Microbiol*. 1991; 57:1683-88.
23. Mazo JZ. Detecção de bacteriocinas produzidas por *Lactobacillus plantarum* BN me melaço de cana-de-açúcar sob fermentação submersa. [dissertação de mestrado]. Florianópolis, Santa Catarina: Universidade Federal de Santa Catarina; 1999.
24. International Commission on Microbiological Specifications for Foods - ICMSE. Gases as preservatives. *In: Food Microbiol Ecology*. New York: Academic Press Inc. 1980;1:170-192.
25. Ijong FG, Ohta Y. Physicochemical and microbiological changes associated with bakasang processing - A traditional indonesian fermented fish sauce. *J Sci Food Agric*. 1996; 71(1): 69-74.
26. Aksu MI, Kaya M. Effect of usage *Urtica dioica* L. on microbiological properties of sucuk, a Turkish dry-fermented sausage. *Food Contr* 2004;15(8):591-595.
27. Yin LJ, Pan CL, Jiang ST. Effect of lactic acid bacterial fermentation on the characteristics of minced mackerel. *J Food Sci*. 2002; 67(2): 786-92.
28. Lee JY, Kim CJ, Kunz B. Identification of lactic acid bacteria isolated from kimchi and studies on their suitability for application as starter culture in the production of fermented sausages. *Meat Scien*. 2006; 72:437-45.
29. Hu Y, Xia W, Ge C. Characterization of fermented silver carp sausages inoculated with mixed starter culture. *LWT*. 2008;41: 730-38.
30. Morzel M, Fransen NG, Elke KA. Defined starter cultures used for fermentation of salmon fillets. *J Food Sci*. 1997; 62(6):1214-18.