

**Efeito da Adição de Culturas Iniciadoras Sobre
Características Físico-Químicas e Microbiológicas de
Salame Tipo Italiano Durante os Períodos de Maturação
e Armazenamento**

**Effect of the Addition of Starter Cultures in the Physico-
Chemical and Microbiological Characteristics of Italian
Sausages During Ripening and Storage**

Gessiel Newton Scheidt

Universidade Federal do Tocantins - UFT, Palmas, TO
gessielscheidt@yahoo.com.br

Augustus Caesar Franke Portella

Universidade Federal do Tocantins - UFT, Palmas, TO
caeser_portella@hotmail.com

Camila Dall' Agnol Pereira

Universidade Federal do Paraná - UFPR, Curitiba, PR
cami_pereira84@yahoo.com.br

Adenise Lorenci Woiciechwski

Universidade Federal do Paraná - UFPR, Curitiba, PR
adenise@ufpr.br

Resumo: O salame tipo italiano brasileiro é predominantemente obtido de carne suína, com maturação de aproximadamente trinta dias, atingindo pH em torno de 5,4 e atividade de água 0,87. Sua fabricação se dá em duas fases: na primeira, ocorre fermentação, acidificação e formação da cor e na segunda há desidratação. O uso das bactérias do gênero *Lactobacillus* como cultivos iniciadores propicia às indústrias processos de fermentação e produtos mais uniformes e seguros, redução do tempo de maturação devido à rápida formação de ácido lático e a obtenção de produtos com melhores características sensoriais, químicas e microbiológicas.

Durante os períodos de fermentação e maturação, os salames foram acompanhados quanto às características físico-químicas e microbiológicas. No decorrer do período de estocagem, além destas análises foram realizadas análises de comparação múltipla e análise estatística de estimativa de vida-de-prateleira. A fermentação foi mais eficiente no salame adicionado de cultura iniciadora, pois há uma produção mais rápida e efetiva de ácido láctico, com conseqüente redução de pH. Esta redução proporciona uma aproximação das moléculas (devido à proximidade com o ponto isoelétrico) e faz com que a perda de água seja facilitada com conseqüente desidratação. O baixo pH e atividade de água perto de 0,82 proporcionaram melhor estabilidade e qualidade microbiológica.

Palavras-chave: comparação múltiplas; culturas iniciadoras; salame; vida de prateleira.

Abstract: The Italian sausage is predominantly obtained from pork, with maturation of approximately 30 days, reaching pH around 5.4 and water activity 0.87. The production is in two phases: the first phase is fermentation, acidification and formation of color and in the second phase, there is dehydration. The use of the bacteria *Lactobacillus* starter culture provides the industries fermentation processes and products more uniform and secure, reducing the time to mature due to the rapid formation of lactic acid, resulting in products with better sensory characteristics, chemical and microbiological. During the period of fermentation and maturation, the sausages were followed concerning the physico-chemical and microbiological characteristics. Tests during the storage period were performed to analyze multiple comparisons and statistical analysis of life expectancy in the shelf. The fermentation was more efficient in sausage added starter culture, because there is a more rapid and effective lactic acid, reducing pH. This reduction provides an approximation of the molecules (due to the proximity of the isoelectric point) and facilitated the loss of water with consequent dehydration. The low pH and water activity close to 0.82 provided improved stability and microbiological quality.

Key words: multiple comparison; sausage; shelf life; starter cultures.

1 Introdução

O salame é uma especialidade que se originou no continente europeu, e cujo nome provém da cidade de Salamis, na Ilha Grega de Cypros, destruída há mais de duzentos anos. Internacionalmente, os salames são classificados em dois grandes grupos, observando-se a tecnologia de fabricação e o pH final do embutido cárneo. Os salames do Norte são elaborados com carne bovina e suína, submetidos a uma fermentação de curta duração. A fermentação pode ser natural ou iniciada com a adição de culturas conhecidas como *starters* [1]. Sua principal característica é o sabor picante, gerado por pH final inferior a 5,0. Já os salames do Mediterrâneo, ou do Sul, possuem em sua formulação, predominantemente, carne suína. Sua fermentação é de longa duração e os valores de pH são sempre superiores a 5,0, conferindo ao produto aroma e sabor envolventes [2]. O salame tipo italiano brasileiro enquadra-se no segundo grupo, pois é predominantemente obtido a partir de carne suína.

Recentemente, a maior produção situa-se nos Estados Unidos, que o têm definido como um produto cárneo obtido por ação bacteriana, alcançando o pH de 5,3. O salame possui de 20% a 50% de umidade, chegando à relação de umidade/proteína inferior a 2,3. A fermentação é considerada por muitos autores [1, 3-5] como a etapa mais importante do processamento do salame. Durante a fermentação, ocorrem produção de ácido láctico e conseqüente abaixamento do pH do produto [4, 5]. É influenciada pelas características da matéria-prima e do processo, que resultam nas características sensoriais do produto final (aroma, cor e textura), e também na estabilidade e segurança do embutido fermentado. Sua maturação é de aproximadamente trinta dias, possui aroma e sabor suaves, um pH em torno de 5,4 e atividade de água inferior a 0,87. A redução da atividade de água a esses valores caracteriza o final do processo. Sua fabricação se dá em duas fases: na primeira, há a fermentação com a ocorrência simultânea de acidificação e formação da cor; a segunda fase é a maturação e consiste na desidratação como decorrência da fermentação [6]. Ambas as fases, fermentação e maturação, ocorrem em câmara de maturação dotada de controles de temperatura, umidade relativa e velocidade do ar [6].

Dois fatores básicos tornam este produto diferente dos demais embutidos: baixo teor de umidade e presença de ácido láctico, que lhe confere o sabor característico. Várias culturas bacterianas têm sido desenvolvidas durante os últimos quarenta anos, reduzindo o tempo de fermentação, assegurando um baixo residual no conteúdo de nitrato e nitrito e estabilizando as características sensoriais do produto final [2].

1.1 Fermentação láctica

A descoberta do processo de conservação de carnes por fermentação ocorreu por meio de tentativas, pela adição de cloreto de sódio e açúcar à carne, seguida por um período de armazenagem. A adição destes ingredientes não pretendia, somente, lançar um novo produto no mercado, mas um produto com maior vida-de-prateleira. O mais significativo efeito da fermentação foi a preservação dos alimentos.

Com o passar dos anos, foi observado que o processo de fermentação estava melhorando pelo uso de um pedaço retirado de um produto já fermentado para iniciar o próximo lote. Isto representou o primeiro uso de cultura iniciadora, pois, anteriormente, as fermentações ocorriam devido à presença de uma microbiota natural presente na carne crua [7].

No século dezenove, Pasteur demonstrou a regularidade das inter-relações entre o metabolismo bacteriano e as transformações químicas promovidas nos alimentos fermentados. No início do século vinte, descobriu-se que as bactérias eram responsáveis pela produção de ácido láctico e redução de nitratos em salames [2].

Os cultivos iniciadores usados em produtos cárneos curados consistem, normalmente, de um microrganismo tipicamente acidificante como *Lactobacillus* ou *Pediococcus* para estabilizar o produto biologicamente, e de um organismo com características nitrato redutoras, o qual, por uma série de reações, produzirá cor avermelhada atrativa, associada com o tipo de produto. Este microrganismo nitrato redutor normalmente é um *Micrococcus* ou *Staphylococcus* coagulase negativa [7].

Os processos de fermentação mais tradicionais que utilizam baixas temperaturas e ocorrem mais lentamente predominam na Europa e em determinadas partes do mundo. No entanto, a produção de salames nos Estados Unidos evoluiu com o desenvolvimento de culturas iniciadoras que promovem fermentações rápidas de oito - doze horas a uma temperatura de 38°C-42°C. Este tipo de processo, denominado processo de cura rápida, também resulta em secagem rápida e produz embutidos secos em uma a três semanas, processo que, tradicionalmente, requer de quatro a doze semanas nas fermentações lentas [3].

As culturas iniciadoras são também inibidoras de microrganismos indesejáveis devido à produção de bacteriocinas e à rápida produção de ácido láctico. Ainda que estes processos sejam adequados, dependem de uma agregação de especiarias e saborizantes para alcançar o perfil desejado, já que os processos mais rápidos produzem principalmente ácido láctico, e uma menor proporção de metabólitos de sabores [8].

Existem critérios de seleção dos microrganismos para uso em salames, tais como: boa produção de ácido láctico; relação adequada de crescimento em diferentes temperaturas; espécies homofermentativas; resistência durante a fermentação; capacidade de redução do nitrato; catalase positiva; formação de sabor; não formação de peróxido; não formação de aminas biogênicas; tolerância ou efeito de sinergismo com outros componentes da cultura; efeito antagônico com patógenos e com microrganismos indesejáveis presentes no processo tecnológico [6].

1.2 *Lactobacillus*

Pertencentes à família Lactobacillaceae, os lactobacilos são microaerófilos, gram-positivos não esporulados, fermentam açúcares produzindo ácido láctico como metabólito principal e são chamados de bactérias ácido-lácticas (BAL). Estes microrganismos exercem um papel importante na fabricação e conservação de alimentos fermentados.

Deliberadamente incluídas na elaboração de processos fermentativos, as bactérias ácido lácticas podem conferir características sensoriais desejáveis, desempenhando, dessa forma, um importante papel na fermentação de

alimentos. Causam mudanças no aroma e na textura, além de promoverem um efeito preservativo, resultando no aumento da vida-de-prateleira do produto transformado. O crescimento das bactérias ácido lácticas em carnes pode causar interferência metabólica sobre as bactérias deterioradoras e patogênicas, pelos mecanismos de competição por absorção de nutrientes e oxigênio, competição pela fixação no substrato e produção de uma extensa gama de substâncias inibidoras como: ácido láctico, ácido acético, peróxido de hidrogênio, gás carbônico, diacetil, acetoína, reuterina e bacteriocinas [2].

Na produção de salames, um pH baixo favorece a perda mais uniforme de umidade, promove o sabor acidificado e a cor avermelhada em função da reação de redução de nitrato em nitrito, resultando na estabilidade do produto. A acidificação contribui para a liga e o aumento da textura do embutido cru, permitindo boas características de fatiamento devido à coagulação das proteínas musculares [7].

As bactérias ácido lácticas são tolerantes a determinados ácidos e ao cloreto de sódio. Estes microrganismos podem fermentar vários tipos de açúcares, tais como glicose, dextrose, frutose e lactose [6].

1.3 *Staphylococcus*

Os *Staphylococcus* são bactérias gram-positivas, aeróbias, que crescem em temperatura ótima de 25°C a 30°C e toleram elevada concentração de cloreto de sódio. Não são produtores de ácido láctico, são nitrato redutores e a maioria possui característica de produção de catalase. São amplamente utilizados quando se deseja formação de uma coloração mais intensa e produtos com reduzida acidificação.

Os estafilococos contribuem para o sabor e aroma do produto, inibem a rancidez pela produção da catalase que desdobra o peróxido de hidrogênio, evitando que este oxide a gordura, principalmente em produtos que apresentam um período de maturação mais prolongado, exercendo efeitos desejáveis sobre a cor, aroma e vida-de-prateleira dos produtos curados [2].

Estas espécies são responsáveis pela formação de cor nos salames, resultado da reação de redução de nitrato a nitrito pela ação destes microrganismos e consequente formação de ácido nitroso e óxido nítrico, os quais reagem com a mioglobina (proteína sarcoplasmática da carne) originando a nitrosomioglobina. Essas reações são fortemente influenciadas pela velocidade e intensidade da acidificação do meio [6].

S. carnosus possui atividade nitrato redutora, é homofermentativo, anaeróbio facultativo, produz catalase, promove lipólise, proteólise e tolera concentrações de até 16% de cloreto de sódio em água. A temperatura de crescimento ótima é 30°C, a máxima, 45°C, e a mínima, 10°C. É bastante utilizado quando se necessita uma coloração mais intensa nos produtos fermentados [6].

1.4 Importância das culturas iniciadoras

Para as indústrias, o uso de cultivos iniciadores tem propiciado obter processos de fermentação e produtos mais uniformes e seguros, com redução do tempo de maturação, obtendo-se, desta forma, produtos com melhores características sensoriais, nutricionais, químicas e microbiológicas. A grande vantagem da utilização de culturas iniciadoras altamente ativas, em processos de fermentação de cura rápida, é que estas proporcionam produtos de alta qualidade em menor período de tempo. Dessa forma, as indústrias se tornam mais competitivas, atendendo às exigências do mercado consumidor, que, ao adquirir um salame, busca encontrar todas as respostas aos seus padrões de aroma, sabor, cor, textura e fatiabilidade [2, 9]. Portanto, o objetivo deste trabalho foi verificar o efeito da adição de culturas iniciadoras sobre características físico-químicas e microbiológicas de salame tipo italiano durante os períodos de maturação e armazenamento.

2 Material e métodos

O salame tipo italiano foi produzido na usina piloto (A) no Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Paraná, com

uma formulação já testada [10]. O processo de fabricação consistiu na moagem da carne em moedor com disco número sete (modelo 98BT, C.A.F., Brasil), corte manual do toucinho e adição dos ingredientes nas proporções desejadas. Após o preparo, a massa foi dividida em duas partes iguais, sendo em uma delas adicionada cultura iniciadora. O embutimento foi realizado em um embutidor manual, e consistiu na colocação da massa preparada em tripas artificiais de celulose de calibre 50 mm. Em seguida, os salames foram identificados e levados a uma estufa incubadora (Modelo 347F, FANEM, Brasil) a uma temperatura de 27°C e umidade relativa (monitorada por um termohigrômetro) entre 75 e 85% até que o pH inicial do salame reduzisse para aproximadamente 5,2 (período de fermentação). A partir daí, o salame foi armazenado na mesma estufa a 14°C até que desidratasse e atingisse uma atividade de água próxima a 0,8 (período de maturação). Depois de maturados, os salames foram retirados das tripas, embalados a vácuo e armazenados a 25°C (período de estocagem).

A formulação utilizada na preparação dos salames foi composta de 85% de paleta suína, 15% de toucinho, 0,1% de pimenta branca, 0,25% de alho em pó, 3% de leite em pó, 0,5% de sacarose, 1% de sal de cura e 2% de sal (NaCl). Foram testados, em experimentos alternados, e os efeitos da adição de 0,0125% de cultura iniciadora Bactoferm T-SL (Chr. Hansen, Brasil) [10]. A cultura iniciadora era composta por células de *S. carnosus* e *L. pentosus*, sendo que o primeiro contribui para o desenvolvimento da coloração e do aroma do salame e o segundo, por ser uma cultura homofermentativa, garante que o produto final da fermentação seja apenas ácido láctico, o qual exerce um controle sobre a flora patogênica, garantindo assim a segurança microbiológica do produto e também contribui para a redução do pH e secagem do salame. Essa cultura foi adquirida na forma liofilizada, em sachês de 25g e mantida sob congelamento até o momento de sua utilização.

Durante os períodos de fermentação e maturação, os salames foram avaliados, mediante a retirada de pequenas amostras, quanto ao pH, medido em peagômetro calibrado (B371, MICRONAL, Brasil); atividade de água, em equipamento eletrônico (AQUALAB, modelo CX-2, Brasil); umidade, por meio

de aparelho de infravermelho (Sartorius, modelo MA50, Brasil); e perda de peso, quantificada pela pesagem de salames identificados em intervalos de tempo pré-determinados, utilizando-se balança analítica (AS2000, Marte, Brasil).

Também, foram realizadas análises microbiológicas, conforme metodologias descritas em Franco e Landgraf [11] para verificar a presença de: bolores e leveduras, pelo método de contagem em superfície em meio seletivo PDA; bactérias lácticas em meio MRS, pelo método *pour plate* com sobrecamada para criar a condição de microaerobiose; coliformes fecais em meio LST-MUG, que possibilita a confirmação de *Escherichia coli* em câmara de luz ultravioleta; *Staphylococcus*, coagulase positiva por meio de contagem direta em placas com ágar Baird-Parker e bactérias psicrófilas, por meio da contagem total de microorganismos aeróbios psicrófilos em superfície de PCA. Todas as análises foram feitas em duplicatas e nas diluições de 10^{-1} a 10^{-6} .

As análises físico-químicas de rancidez oxidativa foram realizadas por reação de Kreiss, acidez de gorduras pelo método II (A. O. A. C. - Official Methods) e índice de peróxidos, também método II (A. O. A. C. - Official Methods). O teor de nitrito residual foi determinado pelo método de Griess-Ilisvay de LANARA [12], de acordo com as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz.

Os testes de índice de peróxidos, acidez de gorduras e determinação da rancidez oxidativa por reação de Kreiss diferem quanto aos seus princípios [13]. A primeira fundamenta-se na sua forte ação antioxidante, onde os peróxidos orgânicos formados na rancificação atuam sobre o iodeto de potássio, liberando iodo que será titulado com tiosulfato de sódio e solução indicadora de amido. A segunda fundamenta-se na neutralização, até o ponto de equivalência pelo hidróxido de sódio na presença de indicador fenolftaleína. Já a terceira análise fundamenta-se na reação do aldeído epihidrílico (formado na rancificação de gorduras) com a floroglucina em presença de ácido clorídrico dando um composto de coloração vermelha [14].

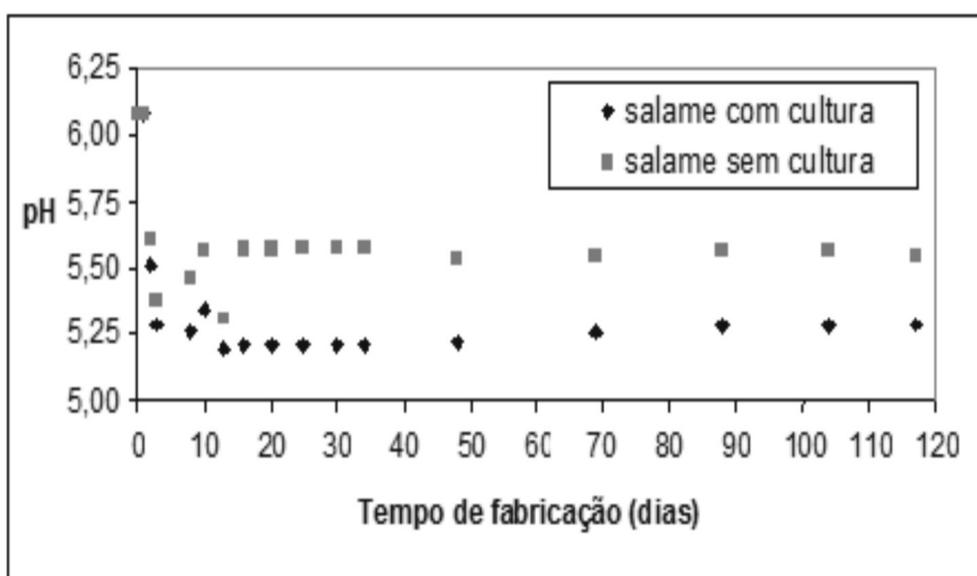
As análises estatísticas para os testes físico-químicos e microbiológicos foram realizadas de acordo com a metodologia de Montgomery [15] e Siegel [16].

3 Resultados

3.1 Análises físico-químicas

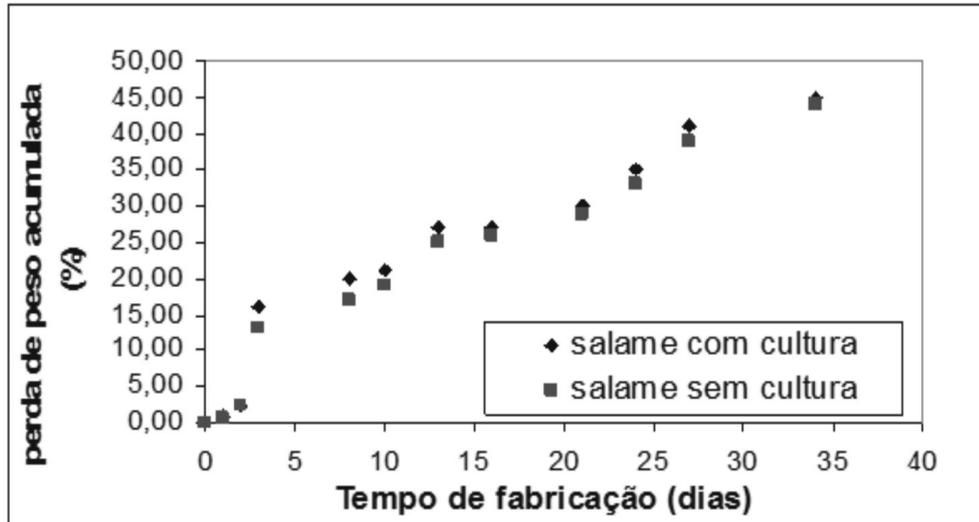
Os resultados da fermentação do salame com e sem cultura iniciadora na formulação podem ser observados nas figuras 1 e 2, que apresentam, respectivamente, a redução do pH e a perda acumulada de água do produto no decorrer do tempo.

Figura 1. Evolução do pH durante o período de fermentação e maturação nos salames com e sem adição de culturas iniciadoras



Fonte: Os autores

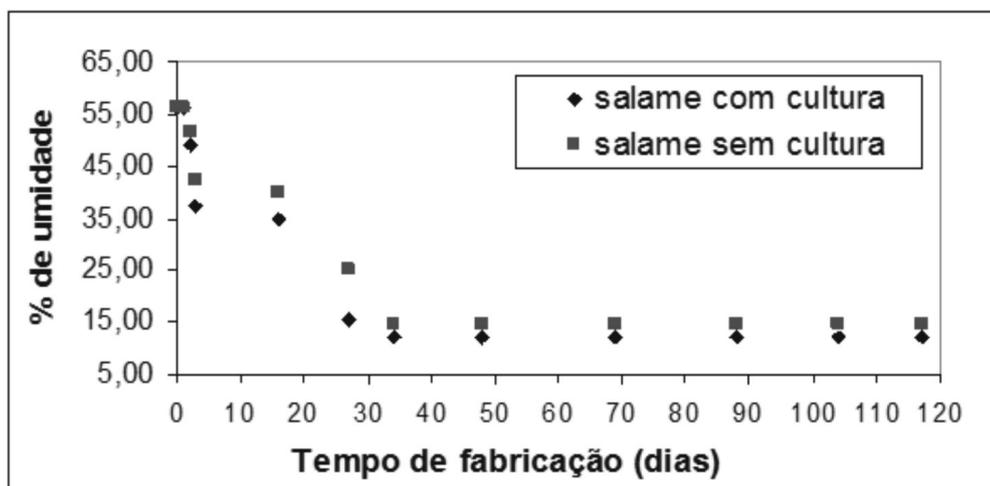
Figura 2. Perda de peso acumulada durante o período de fermentação e maturação nos salames com e sem a adição de culturas iniciadoras



Fonte: Os autores

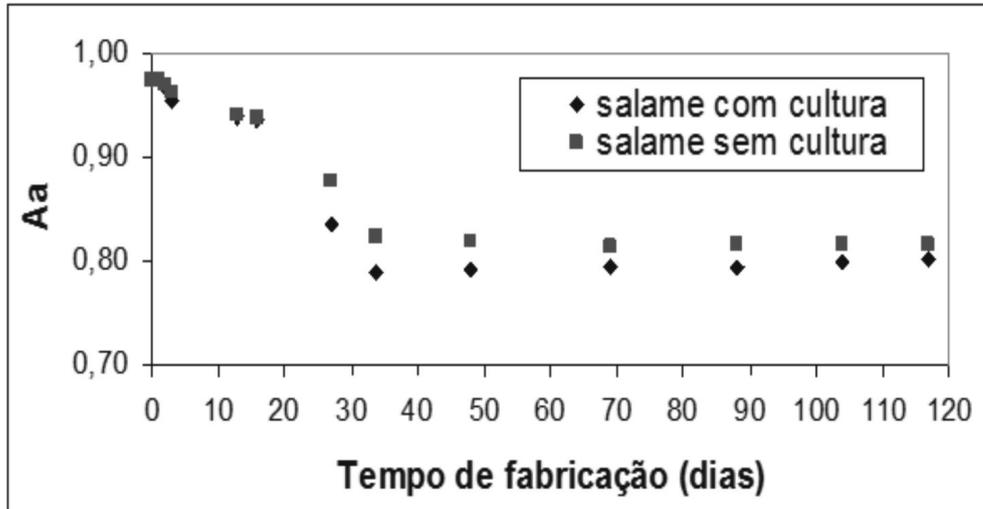
Com a queda do pH e consequente desidratação, também foi possível quantificar a diminuição da umidade e da atividade de água nos dois tipos de salame analisados, conforme pode ser observado nas figuras 3 e 4, respectivamente.

Figura 3. Queda da umidade durante o período de fermentação e maturação nos salames dos diferentes testes



Fonte: Os autores

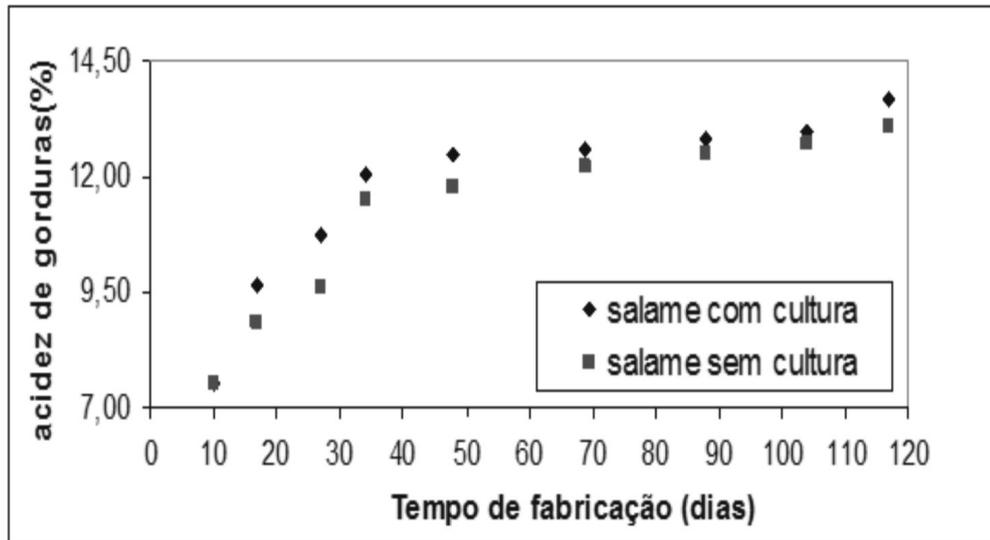
Figura 4. Queda da atividade de água durante o período de fermentação e maturação nos salames dos diferentes testes



Fonte: Os autores

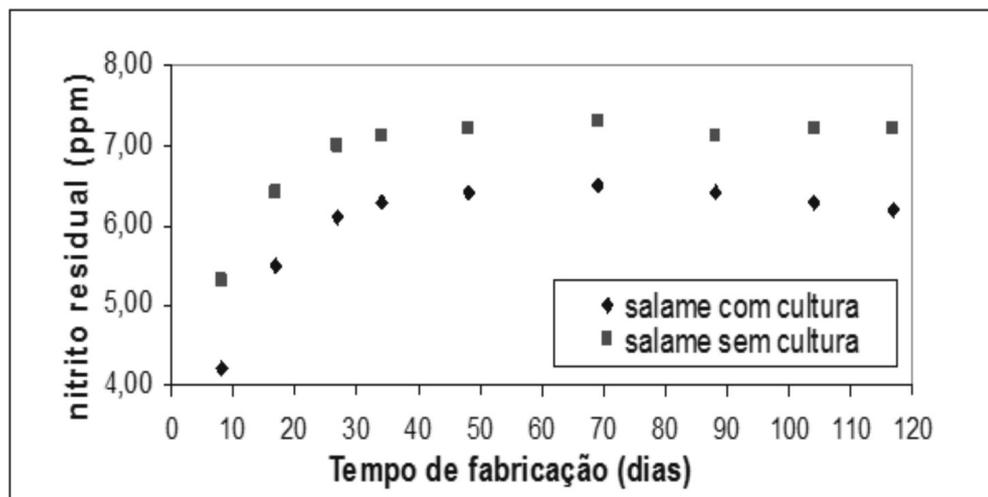
Os resultados dos testes de acidez em lipídeos são apresentados na figura 5, e o teor de nitrito residual, na figura 6. O índice de peróxido manteve-se constante e igual a zero no decorrer do período de análise para as amostras com e sem cultura iniciadora. A determinação qualitativa de rancidez oxidativa por reação de Kreiss, cujo resultado positivo é caracterizado por uma coloração rósea no tubo de ensaio, mostrou um ligeiro aumento com o decorrer do tempo de armazenagem: no sétimo mês de fabricação e sexto de armazenagem foi detectada a rancidez do salame sem cultura, enquanto que o salame com cultura começou a exibir resultado positivo da reação de Kreiss a partir do oitavo mês de fabricação e sétimo de armazenagem.

Figura 5. Acidez em lipídeos durante o período de fermentação e maturação nos salames dos diferentes testes



Fonte: Os autores

Figura 6. Nitrito residual durante o período de fermentação e maturação nos salames dos diferentes testes



Fonte: Os autores

Para os testes físico-químicos, também foram realizadas análises estatísticas para verificar a diferença entre as amostras com e sem cultura para as quais foram utilizadas as hipóteses: H0: variância grupo com cultura = variância grupo sem cultura e H1: variância grupo com cultura > variância grupo sem cultura, sendo que para acidez de gordura a hipótese H1 é invertida. Com o teste F, pode-se concluir que considerando nível de significância de 5%, há homogeneidade entre as variâncias, ou seja, a variância do grupo pH sem cultura é equivalente à variância do grupo com cultura, por exemplo, podendo tal conclusão ser considerada para as demais variáveis.

3.2 Análises microbiológicas

Os resultados das análises microbiológicas durante o período de fermentação (tempo total de treze dias), caracterizado pela queda do pH a 5,2 e maturação (tempo total de 21 dias), caracterizado pela atividade de água na faixa de 0,80-0,82 e armazenamento do salame tipo italiano podem ser observados na tabela 1.

Tabela 1. Resultados das análises microbiológicas no decorrer do período de fermentação e maturação do salame tipo italiano com e sem cultura

Tempo de fabricação	Bactérias Lácticas (UFC/g)		Staphylococcus Coagulase Positiva (UFC/g)		Coliformes Fecais (NMP/g)		Bactérias Psicrófilas (UFC/g)		Bolores e leveduras (UFC/g)	
	C. C.	S. C.	C. C.	S. C.	C.C.	S.C	C. C.	S. C.	C. C.	S. C.
4	1,5.10 ⁸	1.10 ⁸	4,8.10 ²	6,4.10 ²	7	9	1,8.10 ³	1,9.10 ³	1,2.10 ⁷	1,7.10 ⁷
11	2,9.10 ⁷	3.10 ⁷	5,6.10 ²	7,1.10 ²	9	14	2,0.10 ³	2,3.10 ³	2,7.10 ⁶	3,1.10 ⁶
19	3,6.10 ⁷	3,7.10 ⁷	5,5.10 ²	7,4.10 ²	9	15	2,0.10 ³	2,9.10 ³	2,0.10 ⁶	6,5.10 ⁶
26	5,0.10 ⁷	5,1.10 ⁷	5,4.10 ²	7,8.10 ²	9	14	2,3.10 ³	3,4.10 ³	2,6.10 ⁶	6,4.10 ⁶
33	6,1.10 ⁷	5,3.10 ⁷	5,4.10 ²	7,6.10 ²	9	15	2,5.10 ³	3,5.10 ³	2,5.10 ⁶	6,2.10 ⁶
48	8,7.10 ⁶	7,1.10 ⁶	5,5.10 ²	7,5.10 ²	14	21	4,4.10 ³	7,4.10 ³	2,4.10 ⁶	5,3.10 ⁶
69	4,3.10 ⁶	4,1.10 ⁶	6,0.10 ²	8,4.10 ²	14	23	8,9.10 ³	1,9.10 ⁴	2,4.10 ⁶	4,1.10 ⁶
87	9,1.10 ⁵	7,5.10 ⁵	6,1.10 ²	9,8.10 ²	15	20	2,1.10 ⁴	8,1.10 ⁴	2,2.10 ⁶	4,0.10 ⁶
103	6,2.10 ⁵	4,9.10 ⁵	6,3.10 ²	1,5.10 ³	14	20	5,6.10 ⁴	1,0.10 ⁵	2,0.10 ⁶	3,9.10 ⁶
116	4,1.10 ⁵	3,8.10 ⁵	6,2.10 ²	2,2.10 ³	15	21	6,4.10 ⁴	1,2.10 ⁵	2,1.10 ⁶	3,6.10 ⁶

Tempo de fabricação: dias, C.C: Com Cultura, S.C: Sem Cultura

Fonte: Os autores

4 Discussão

Os resultados mostraram que a fermentação foi mais eficiente no salame tipo italiano adicionado da cultura iniciadora, pois verificou-se produção mais rápida e efetiva de ácido láctico, com conseqüente redução de pH. A redução do pH proporcionou o alcance do ponto isoelétrico da proteína da carne e a aproximação de suas moléculas faz com que a perda de água seja facilitada.

Isso pode ser observado nas figuras 1 e 2 pela maior redução do pH e por uma maior perda de água acumulada no salame adicionado de cultura iniciadora. Este fato, também, pôde ser observado na textura e na coloração do produto, uma vez que o salame com a cultura iniciadora era mais firme e possuía uma coloração mais forte devido à menor concentração de água. Este comportamento, durante a fermentação, também foi verificado por Garcia et al. [17] em seu estudo, no qual os valores após vinte dias de maturação foram iguais a 5,4 para o pH e cerca de 33% para a perda de peso acumulada, enquanto que, no presente trabalho, os valores aproximados para este mesmo período de vinte dias de maturação foram de 5,25 e 30% para pH e perda de peso, respectivamente (valores para o salame adicionado de cultura iniciadora). O salame sem cultura apresentou valor de pH igual a 5,6 e perda de peso praticamente igual à do salame com cultura para o mesmo período de maturação. Esta diferença no valor de pH obtido deve-se ao fato de que a cultura iniciadora acelera e intensifica a produção de ácido láctico provocando redução mais rápida do pH.

Com a queda do pH e conseqüente desidratação, também, foi possível observar uma maior redução da umidade e da atividade de água do salame adicionado de cultura iniciadora, conforme pode ser observado nas figuras 3 e 4, respectivamente. Garcia et al. [17] obtiveram, ao final de 20 dias de maturação de salame, valores de 0,88 para atividade de água e 35% para umidade, similares aos encontrados no presente trabalho, de 0,84 para atividade de água e 35% para umidade.

Os testes de acidez de gorduras mostraram que a utilização da cultura iniciadora não influenciou no resultado (Figura 5), ao contrário do teor de nitrito residual. O salame com cultura apresentou um teor de nitrito menor devido ao fato

das bactérias lácticas favorecerem a degradação do nitrito por meio da redução do pH (Figura 6) e também devido à presença de *Staphylococcus*, que reduz o nitrato do sal de cura a nitrito[12].

Toni et al. [18] observaram em seu trabalho valores de nitrito residual iguais a 10 ppm e 7 ppm para os salames sem e com cultura, respectivamente, após 28 dias de maturação. Esta diferença de valores entre o salame sem cultura e o salame com cultura pode também ser observada na figura 6, na qual o salame sem cultura apresentou 7 ppm de nitrito residual e, o salame com cultura, 6 ppm de nitrito residual ao final de trinta dias de maturação. Pode-se observar que os dois tipos de salame apresentam uma curva crescente para o teor de nitrito residual durante os períodos de fermentação e maturação. Isso ocorre devido à redução de nitrato (presente no sal de cura utilizado para a fabricação dos salames) em nitrito. Após 35 dias de maturação, o teor de nitrito nos salames manteve-se estável até o final do período de armazenamento. É importante salientar que todos os valores de nitrito residual estão dentro de limite máximo estabelecido pela legislação brasileira de 30 ppm no produto final [19].

Quanto à oxidação, pode-se perceber que a cultura iniciadora atuou como protetora do salame, pois pelos resultados obtidos na reação de Kreiss verificou-se que o salame sem a cultura iniciadora mostrou leve reação positiva, caracterizada pela coloração rósea na reação, no decorrer do tempo, de modo que no sexto mês de armazenamento, a coloração rósea na reação mostrou-se mais intensa, caracterizando a presença de aldeídos e cetonas e configurando rancidez. Por sua vez, o salame adicionado de cultura iniciadora, apresentou reação de Kreiss positiva no sétimo mês de armazenamento.

As análises microbiológicas mostraram que o salame adicionado de cultura apresentou melhor qualidade microbiológica. Pela tabela 1, observa-se que o salame com adição de cultura mostrou menores valores de coliformes fecais. Isso ocorreu pelo fato de seu pH ser mais baixo (devido à maior formação de ácido láctico na fermentação) e pela quantidade de bactérias lácticas, que competem pelo substrato inibindo o crescimento de outras bactérias [20]. Além da competição pelo substrato, as bactérias lácticas produzem metabólitos dotados de ação antibacteriana, tais como peróxido de hidrogênio, ácido acético, diacetil,

gás carbônico, reuterina, bacteriocinas e antibióticos, contribuindo para uma melhor estabilidade e segurança microbiológica do salame adicionado de cultura iniciadora [7].

5 Conclusões

Para este teste, foram utilizadas as hipóteses: H_0 : média grupo com cultura = média grupo sem cultura e H_1 : média grupo sem cultura > média grupo com cultura, sendo que para perda de peso e acidez de gordura a hipótese H_1 é invertida. Pode-se concluir que considerando nível de significância de 5%, não houve diferença significativa entre as médias dos grupos com e sem cultura para as variáveis atividade de água, porcentagem de umidade, perda de peso, e acidez de gordura. Contudo, para as variáveis pH e nitrito residual verificou-se que a média do grupo sem adição de cultura foi maior que a média do grupo com adição de cultura.

Para as análises microbiológicas, foram, também, realizadas análises estatísticas com os resultados das duplicatas pela aplicação do teste U, uma vez que o tamanho de cada grupo era muito pequeno. Somente a variável bactérias lácticas não apresentou diferença significativa entre os grupos (com e sem cultura), ao nível de significância de 5%. Para as demais variáveis, pode-se concluir, ao nível de significância de 5%, que a média de microorganismos patogênicos e/ou deteriorantes no grupo sem cultura foi maior que a média do grupo adicionado de cultura iniciadora.

6 Agradecimentos

Os autores agradecem ao Programa de Pós-Graduação em Processos Biotecnológicos e ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Paraná, pelo suporte técnico e financeiro.

7 Referências

- [1] GALLI, F. Os embutidos: como fabricá-los. *Rev. Nac. Carne*, v. 194, p. 14-27, 1993.
- [2] GRIS, E. F.; BORTOLUZZI, R.; SANTO, M. L. P. E. e DAMIAN, C. Produtos fermentados. *Rev. Nac. Carne*, v. 308, p. 94-98, 2002.
- [3] YAMADA, E. A. A produção de salames. *Rev. Nac. Carne*, v. 220, p. 72-76, 1995.
- [4] TONI, C. H.; DeTONI Jr. C.; SANT'ANNA, E. S. e OGLIARI, P. J. Uso de bactérias lácticas e seus efeitos nas variações do pH de nitrito durante a maturação do salame tipo italiano. *Boletim da SBCTA*, 28 (1994),1-9.
- [5] CAVENAGHI, A. D. *Uso da associação de culturas starters na fabricação do salame tipo italiano*. 1999, 151p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Tecnologia Bioquímica-Farmacêutica). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP.
- [6] TERRA, A. B.; FRIES, L. L. M. e TERRA, N. *Particularidades na fabricação de salame*. 1. ed. São Paulo: Livraria Varela, (2004). 152 p.
- [7] TERRA, N. Fermentação como fator de segurança e qualidade para o consumidor. *Rev. Nac. Carne*, v. 239, p. 26-32, 1997.
- [8] TERRA, N. Particularidades na fabricação de salame. *Rev. Nac. Carne*. Disponível em:<http://www.dipemar.com.br/carne/317/materia_aditivos2_carne.htm>. Acesso: 05 jul 2009.
- [9] CAVENAGHI, A. D.; OLIVEIRA, M. N. Influência de algumas características físico-químicas e sensoriais na qualidade de salame tipo italiano fabricado no Brasil. *Rev. Nac. Carne*, v. 263, p. 44-48, 1999.
- [10] CAVENAGHI, A. D. *Uso da associação de culturas starters na fabricação do salame tipo italiano*. 1999, 151p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Tecnologia Bioquímica-Farmacêutica). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP.
- [11] FRANCO, B. e LANDGRAF, M. *Microbiologia dos alimentos*. São Paulo: Atheneu, (2003), 182 p.

- [12] PETENUCCI, M. E.; VISENTAINER, J. V.; MATSUCHITA, M. e SOUZA, N. E. Nitratos e nitritos na conservação de carnes. *Rev. Nac. Carne*, v. 333, p. 52-55, 2004.
- [13] SANADA, C. T. N.; KARP, S. G.; SPIER, M. R.; PORTELLA, A. C.; GOUVÊA, P. M.; YAMAGUISHI, C. T.; VANDENBERGHE, L. P. S.; PANDEY, A. e SOCCOL, C. R. Utilization of soybean vinasse for alf-galactosidase production. *Food Res. Int.*, p. 487-496, 2009.
- [14] PREGNOLATTO, N. P. *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos*. 3. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985.
- [15] MONTGOMERY, D. C. *Design and analysis of experiments Singapura*: John Wiley & Sons Inc, 1991.
- [16] SIEGEL, S. *Estatística não-paramétrica para as ciências do comportamento*. McGraw-Hill do Brasil, 1981.
- [17] GARCIA, F. T.; GAGLEAZZI, U. I. e 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, 1999.
- [18] TONI, C. H.; DeTONI Jr.; C., SANT'ANNA, E. S. e OGLIARI, P. J. Uso de bactérias lácticas e seus efeitos nas variações do pH de nitrito durante a maturação do salame tipo italiano. *Boletim da SBCTA*, v. 28, p. 1-9, 1994.
- [19] BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento: Métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes – Sal e Salmoura – Instrução Normativa, n. 20 de 21 jul.1999, publicada no DOU de 09 set. 1999. Disponível em: <http://www.engetcno.com.br/salame_italiano.htm>. Acesso: 13 jul 2009.
- [20] PARADA, J. L.; CARON, C. R.; MEDEIROS, A. P. e SOCCOL, C. R.. Bacteriocins from lactic acid bacteria: purification, properties and use as biopreservatives. *Braz. Arch. Biol. Techn.*, v. 50, p. 521-542, 2007.