

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica
Área de Tecnologia de Alimentos

**Efeito da adição de culturas sobre as
características microbiológicas e a capacidade de
sobrevivência de *Staphylococcus aureus* em
salame tipo Italiano**

CÉZAR VANZIN

**Dissertação para a obtenção do grau de
MESTRE**

**Orientadora:
Profa. Dra. Susana Marta Isay Saad**

**São Paulo
2002**

César Vanzin

Efeito da adição de culturas sobre as características microbiológicas e a capacidade de sobrevivência de *Staphylococcus aureus* em salame tipo Italiano

Comissão Julgadora

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Profa. Dra. Susana Marta Isay Saad

Orientadora / Presidente

Profa. Dra. Bernadette Dora Gombossy de Melo Franco

1º examinador

Profa. Dra. Thereza Christina Vessoni Penna

2º examinador

São Paulo, 26 de Junho de 2002

**Meus sinceros agradecimentos à Profa.
Dra. Susana Marta Isay Saad, pela
orientação, dedicação, amizade e
principalmente por sua paciência e
confiança em mim depositada.**

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Maricê Nogueira de Oliveira por ter sido uma das responsáveis de minha permanência no departamento e pelos ensinamentos ao longo dos anos.

À minha noiva, Sara Bentler, pela ajuda durante todo o período, pela sua amizade, carinho e acima de tudo sua compreensão.

Aos amigos Chiu, João, Juliana e Denise pelos inúmeros socorros prestados principalmente durante as produções e pelo companheirismo durante minha permanência no departamento.

Ao amigo Jorge, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, pela revisão gramatical.

Ao Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

Aos professores, funcionários e colegas do Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, pelo apoio direto ou indireto recebido durante a realização deste curso.

Aos profissionais do Laboratório Semi-Industrial do Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica pela ajuda principalmente ao Marcelo Marques que me ensinou boa parte dos cálculos.

Aos bibliotecários do Conjunto de Químicas da USP, pela realização de revisões bibliográficas e por orientações na catalogação correta das referências bibliográficas.

Ao Juarez, Miriam, Nilton, Gladson, Ivani, Fátima pela paciência, amizade e constantes cooperações.

Aos meus colegas, alunos de pós-graduação, pela amizade e apoio durante todo o tempo que passamos juntos.

Aos meus pais, pois sem eles não teria conseguido fazer uma faculdade, tão pouco esta pós-graduação. Em especial à minha mãe pelo intenso apoio e incentivo.

Em fim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	I
LISTA DE TABELAS	V
RESUMO	IX
ABSTRACT	X
I. INTRODUÇÃO	1
1- Aspectos gerais relacionados ao uso de culturas no processamento de embutidos	1
2- Qualidade microbiológica da carne e obtenção de embutidos fermentados	3
3- Microrganismos que comprometem a qualidade e o emprego de culturas <i>starter</i> na fabricação de embutidos	7
4- Adição de sais de cura e a qualidade de produtos cárneos durante a vida-de-prateleira	12
5- Características do <i>Staphylococcus aureus</i>	14
6- Destruição microbiana e valor D	16
7- Os embutidos fermentados e a tecnologia dos obstáculos	16
8- Salame tipo Italiano	18
II. OBJETIVOS	21
III – MATERIAIS E MÉTODOS	22
1- Matérias primas	22
2- Fabricação de salame tipo Italiano	23
3- Preparação e inoculação da cultura de <i>Lactobacillus sake</i> 2a	27
4- Preparação e inoculação da cultura de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	28
5- Amostragem	28

6- Análises microbiológicas	29
7- Análises físico-químicas	30
7.1- Determinação de pH	30
7.2- Determinação do valor da atividade de água	30
8- Análise dos resultados	30
IV – RESULTADOS	31
1 – Características de salames tipo Italiano preparados com 2 e 3 tipos de culturas <i>starter</i> , com (T1, T2) e sem de sais de cura (T3, T4), não inoculados com <i>Staphylococcus aureus</i> .	32
2 – Características de salames tipo Italiano preparados com (T6, T9) e sem (T5, T8) adição de 2 tipos de culturas <i>starter</i> , com (T5, T6) e sem (T8, T9) adição de sais de cura, artificialmente contaminados com <i>S. aureus</i> (ATCC 25923).	45
3 – Características de salames tipo Italiano preparados com (T7, T10) e sem (T5, T8) adição de 3 tipos de culturas <i>starter</i> , com (T5, T7) e sem (T8, T10) adição de sais de cura, artificialmente contaminados com <i>S. aureus</i> (ATCC 25923).	60
4 – Características de salames tipo Italiano preparados com (T11) e sem (T13) <i>Lactobacillus sake</i> 2a, com (T11) e sem (T13) adição de sais de cura, não inoculados com <i>Staphylococcus aureus</i> .	74
5 – Características de salames tipo Italiano preparados com (T12, T14) e sem (T5, T8) adição de <i>Lactobacillus sake</i> 2a, com (T5, T12) e sem (T8, T14) adição de sais de cura, artificialmente contaminados com <i>S. aureus</i> (ATCC 25923).	85
V- DISCUSSÃO	99
VI- CONCLUSÕES	107
VI – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	109
VII – ANEXOS	123

LISTA DE FIGURAS	Página
Figura 1 - Principais etapas envolvidas na fabricação de salame tipo Italiano e esquema de amostragem para a execução das análises microbiológicas e físico-químicas.	23
Figura 2 - Tratamentos empregados para a obtenção do salame tipo Italiano.	26
Figura 3 - Populações médias de coliformes, de <i>Escherichia coli</i> , de bolores e leveduras em salames tipo Italiano com (T1 e T2) e sem adição de sais de cura (T3 e T4), com 2 (T1 e T3) e 3 tipos (T2 e T4) de culturas <i>starter</i> durante a maturação e vida-de-prateleira.	41
Figura 4 - Populações médias de bactérias lácticas e de microrganismos mesófilos em salames tipo Italiano com (T1 e T2) e sem adição de sais de cura (T3 e T4), com 2 (T1 e T3) e 3 tipos (T2 e T4) de culturas <i>starter</i> durante a maturação e vida-de-prateleira.	42
Figura 5 - Populações médias de <i>Staphylococcus spp.</i> e de <i>Staphylococcus aureus</i> em salames tipo Italiano com (T1 e T2) e sem adição de sais de cura (T3 e T4), com 2 (T1 e T3) e 3 tipos (T2 e T4) de culturas <i>starter</i> durante a maturação e vida-de-prateleira.	43
Figura 6 - Valores médios de pH e de atividade de água em salames tipo Italiano com (T1 e T2) e sem adição de sais de cura (T3 e T4), com 2 (T1 e T3) e 3 tipos (T2 e T4) de culturas <i>starter</i> durante a maturação e vida-de-prateleira.	44
Figura 7 - Populações médias de coliformes, de <i>Escherichia coli</i> e de bolores e leveduras em salames tipo Italiano com (T5) e sem adição de sais de cura (T8), com adição de 2 tipos culturas <i>starter</i> (T6 e T9) durante a maturação e vida-de-prateleira.	56

- Figura 8** - Populações médias de bactérias lácticas e de microrganismos mesófilos em salames tipo Italiano com (T5) e sem adição de sais de cura (T8), com adição de 2 tipos de culturas *starter* (T6 e T9) durante maturação e vida-de-prateleira. 57
- Figura 9** - Populações médias de *Staphylococcus spp.* e de *Staphylococcus aureus** em salames tipo Italiano com (T5) e sem adição de sais de cura (T8), com adição de 2 tipos de culturas *starter* (T6 e T9) durante maturação e vida-de-prateleira. 58
- Figura 10** - Valores médios de pH e de atividade de água em salames tipo Italiano com (T5) e sem adição de sais de cura (T8), com adição de 2 tipos de culturas *starter* (T6 e T9) durante maturação e vida-de-prateleira. 59
- Figura 11** - Populações médias de coliformes, de *Escherichia coli* e de bolores e leveduras em salames tipo Italiano com (T5) e sem adição de sais de cura (T8), com adição de 3 tipos de culturas *starter* (T7 e T10) durante a maturação e vida-de-prateleira. 70
- Figura 12** - Populações médias de bactérias lácticas e de mesófilos em salames tipo Italiano com (T5) e sem adição de sais de cura (T8), com adição de 3 tipos de culturas *starter* (T7 e T10) durante a maturação e vida-de-prateleira. 71
- Figura 13** - Populações médias de *Staphylococcus spp.* e de *Staphylococcus aureus** em salames tipo Italiano com (T5) e sem adição de sais de cura (T8), com adição de 3 tipos de culturas *starter* (T7 e T10) durante a maturação e vida-de-prateleira. 72
- Figura 14** - Valores médios de pH e de atividade de água em salames tipo Italiano com (T5) e sem adição de sais de cura (T8), com adição de 3 tipos de culturas *starter* (T7 e T10) durante a maturação e vida-de-prateleira. 73

- Figura 15** - Populações médias de coliformes, de *Escherichia coli* e de bolores e leveduras em salames tipo Italiano com (T11) e sem adição de sais de cura (T13), com *Lactobacillus sake* 2a (T11 e T13) durante a maturação e vida-de-prateleira. 81
- Figura 16** - Populações médias de bactérias lácticas e microrganismos mesófilos em salames tipo Italiano com (T11) e sem adição de sais de cura (T13), com *Lactobacillus sake* 2a (T11 e T13) durante a maturação e vida-de-prateleira. 82
- Figura 17** - Populações médias de *Staphylococcus* spp. e de *Staphylococcus aureus* obtidas em salames tipo Italiano com (T11) e sem adição de sais de cura (T13), com *Lactobacillus sake* 2a (T11 e T13) durante a maturação e vida-de-prateleira. 83
- Figura 18** - Valores médios de pH e de atividade de água em salames tipo Italiano com (T11) e sem adição de sais de cura (T13), com *Lactobacillus sake* 2a (T11 e T13) durante a maturação e vida-de-prateleira. 84
- Figura 19** - Populações médias de coliformes, de *Escherichia coli* e de bolores e leveduras em salames tipo Italiano com (T5) e sem adição de sais de cura (T8), com *Lactobacillus sake* 2a (T12 e T14) durante a maturação e vida-de-prateleira. 95
- Figura 20** - Populações médias de bactérias lácticas e de microrganismos mesófilos em salames tipo Italiano com (T5) e sem adição de sais de cura (T8), com *Lactobacillus sake* 2a (T12 e T14) durante a maturação e vida-de-prateleira. 96
- Figura 21** - Populações médias de *Staphylococcus* spp. e de *Staphylococcus aureus* em salames tipo Italiano com (T5) e sem adição de sais de cura (T8), com *Lactobacillus sake* 2a (T12 e T14) durante a maturação e vida-de-prateleira. 97

Figura 22 - Valores médios de pH e de atividade de água em salames tipo Italiano com (T5) e sem adição de sais de cura (T8), com *Lactobacillus sake* 2a (T12 e T14) durante a maturação e vida-de-prateleira.

LISTA DE TABELAS**Página**

Tabela 1 - Formulação básica empregada na fabricação de salame tipo Italiano.	22
Tabela 2 - Descrição dos 14 tipos de combinações de tratamento empregados para a obtenção de salame tipo Italiano.	24
Tabela 3 - Média, desvio padrão e valores D das populações de coliformes totais, <i>Escherichia coli</i> e bolores e leveduras obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas <i>starter</i> (T1, T2, T3 e T4) e com a adição (T1, T2) ou não (T3, T4) de sais de cura.	32
Tabela 4 - Média, desvio padrão e valores D das populações de microrganismos mesófilos e bactérias lácticas durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas <i>starter</i> (T1, T2, T3 e T4) e com a adição (T1 e T2) ou não de sais de cura (T3 e T4).	35
Tabela 5 - Média, desvio padrão e valores D das populações de <i>Staphylococcus</i> spp e <i>Staphylococcus aureus</i> obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas <i>starter</i> (T1, T2, T3 e T4) e com a adição (T1 e T2) ou não de sais de cura (T3 e T4).	38
Tabela 6 - Valores médios de pH e atividade de água e desvio padrão obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas <i>starter</i> (T1, T2, T3 e T4) e com a adição (T1 e T2) ou não de sais de cura (T3 e T4).	40
Tabela 7 - Média, desvio padrão e valores D das populações de coliformes totais, <i>Escherichia coli</i> e bolores e leveduras obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas <i>starter</i> (T5, T6, T8 e T9) e com a adição (T5, T6) ou não (T8, T9) de sais de cura.	46

- Tabela 8** - Média, desvio padrão e valores D das populações de microrganismo mesófilos e bactérias lácticas obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas *starter* (T5, T6, T8 e T9) e com a adição (T5, T6) ou não (T8,T9) de sais de cura. 48
- Tabela 9** - Média, desvio padrão e valores D das populações de *Staphylococcus* spp e *Staphylococcus aureus* obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas *starter* (T5, T6, T8 e T9) e com a adição (T5, T6) ou não (T8,T9) de sais de cura. 50
- Tabela 10** - Valores médio de pH e atividade de água e desvio padrão obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas *starter* (T5, T6, T8 e T9) e com a adição (T5, T6) ou não (T8, T9) de sais de cura. 53
- Tabela 11** - Média, desvio padrão e valores D das populações de coliformes totais, *Escherichia coli* e bolores e leveduras obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas *starter* (T5, T7, T8 e T10) e com a adição (T5, T7) ou não (T8, T10) de sais de cura. 61
- Tabela 12** - Média, desvio padrão e valores D das populações de microrganismos mesófilos e bactérias lácticas obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas *starter* (T5, T7, T8 e T10) e com a adição (T5, T7) ou não (T8, T10) de sais de cura. 63
- Tabela 13** - Média, desvio padrão e valores D das populações de *Staphylococcus* spp e *Staphylococcus aureus* obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas *starter* (T5, T7, T8 e T10) e com a adição (T5, T7) ou não (T8, T10) de sais de cura. 66

- Tabela 14** - Valores médios de pH e de atividade de água obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processado com a adição de culturas *starter* (T5, T7, T8 e T10) e com a adição (T5, T7) ou não (T8, T10) de sais de cura. 69
- Tabela 15** - Média, desvio padrão e valores D das populações de coliformes totais, *Escherichia coli* e bolores e leveduras obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas *starter* (T11 e T13) e com a adição (T11) ou não (T13) de sais de cura. 75
- Tabela 16** - Média, desvio padrão e valores D das populações de microrganismos mesófilos e bactérias lácticas obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas *starter* (T11 e T13) e com a adição (T11) ou não (T13) de sais de cura. 77
- Tabela 17** - Média, desvio padrão e valores D das populações de *Staphylococcus* spp e *Staphylococcus aureus* obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas *starter* (T11 e T13) e com a adição (T11) ou não (T13) de sais de cura. 79
- Tabela 18** - Valores médios de pH e de atividade de água obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas *starter* (T11 e T13) e com a adição (T11) ou não (T13) de sais de cura. 80
- Tabela 19** - Média, desvio padrão e valores D de coliformes totais, *Escherichia coli* e bolores e leveduras obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas *starter* (T5, T8, T12 e T14) e com a adição (T5, T12) ou não (T8, T14) de sais de cura. 86

Tabela 20 - Média, desvio padrão e valores D de microrganismo mesófilos e bactérias lácticas obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas *starter* (T5, T8, T12 e T14) e com a adição (T5, T12) ou não (T8, T14) de sais de cura.

89

Tabela 21 - Média, desvio padrão e valores D de *Staphylococcus* spp e *Staphylococcus aureus* obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas *starter* (T5, T8, T12 e T14) e com a adição (T5, T12) ou não (T8, T14) de sais de cura.

91

Tabela 22 - Valores médios de pH e de atividade de água obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas *starter* (T5, T8, T12 e T14) e com a adição (T5, T12) ou não (T8, T14) de sais de cura.

93

RESUMO

O emprego de culturas *starter* tem a finalidade de originar uma população microbiana que supere a microbiota contaminante ou mesmo natural da matéria-prima. O presente trabalho teve por objetivo estudar a influência de culturas *starter* compostas por diferentes combinações de microrganismos, assim como de uma bactéria láctica não *starter* descrita como produtora de bacteriocina (*Lactobacillus sake* 2a) sobre a capacidade de sobrevivência de *Staphylococcus aureus* artificialmente inoculado e de diferentes grupos de microrganismos (coliformes totais, *Escherichia coli*, bolores e leveduras, mesófilos, bactérias lácticas e *Staphylococcus* spp.), durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano. Um total de 14 tratamentos tipos de salames foram preparadas (em duplicata), com as seguintes variáveis: adição ou não de 2 ou 3 culturas *starter* em partes iguais (FF1 + SL ou FF1 + SL + SPX, Chr. Hansen); adição ou não de uma cultura não *starter*; adição ou não de sais de cura. Dentre as formulações, 8 foram artificialmente contaminadas com *S. aureus*. As análises foram conduzidas no início do processamento (matéria-prima), durante a maturação (2º, 10º e 20º dia) e a vida-de-prateleira (a cada 10 dias, até o 90º dia). Observou-se que, apesar dos diferentes tratamentos testados, *S. aureus* não foi eliminado antes do término do período de maturação, permanecendo viável no produto até o final ou até boa parte de sua vida de prateleira, com uma redução que variou de 1,27 ciclos log (salames adicionados de 2 tipos culturas e sais de cura) e 1,08 ciclos log (salames adicionados de 3 tipos culturas e sais de cura). As produções adicionadas de *Lactobacillus sake* não puderam ser classificadas como salame tipo Italiano, por não terem alcançado o pH característico do produto, ao contrário do que ocorreu com os demais salames produzidos. A adição de sais de cura dificultou a inibição da maioria dos microrganismos, particularmente de *S. aureus*, exceto no caso das formulações com *L. sake*, para as quais observou-se um efeito sinérgico aditivo entre a cultura e os sais de cura, efeito entretanto insuficiente para garantir a segurança do produto. Os dados obtidos não permitiram concluir sobre as diferenças entre a adição ou não de culturas *starter*, bem como a sua composição, sobre a inibição dos microrganismos. Apesar do salame ser um produto que não fornece condições adequadas para a multiplicação microbiana, se houver uma alta contaminação inicial de *S. aureus* e, possivelmente, de outros patógenos, esta permanecerá no produto, podendo chegar ao consumidor com populações relativamente elevadas.

Palavras chaves: salame tipo Italiano, culturas *starter*, nitrato e nitrito, embutido seco, *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus sake* 2a, maturação, vida-de-prateleira.

ABSTRACT

The use of starter cultures has the purpose of providing sufficient microbial numbers to ensure numerical dominance over the natural contaminating flora. The objective of this study was to evaluate the influence of starter cultures composed of different combinations of microorganisms and of a non starter bacteriocin producing lactic acid bacteria (*Lactobacillus sake* 2a) over the survival of an artificially inoculated *Staphylococcus aureus* strain and of different groups of microorganisms (total coliforms, *Escherichia coli*, yeasts and molds, mesophiles, lactic acid bacteria and *Staphylococcus* spp.), during the curing process and the shelf life of Italian salami. Fourteen formulations of salami were prepared (twice each), employing the following variables: addition or not of 2 or 3 starter cultures in equal parts (FF1 + SL or FF1 + SL + SPX, Chr. Hansen); addition or not of a non starter culture; addition or not of a curing agent composed of nitrite and nitrate. Eight of the formulations were artificially contaminated with *S. aureus*. Analysis proceeded in the beginning of the manufacturing process (meat), during the curing process (after the 2nd, the 10th and the 20th day) and during the shelf-life of the product (every 10 days, up to the 90th day). It was observed that, in spite of the different kinds of treatments tested, *S. aureus* was not eliminated during the curing process, remaining viable until the end of the shelf life, or at least during most part of it. Formulations added of *L. sake* could not be classified as salami, as they did not reach the typical pH of the product, pH that was reached by the other formulations prepared. Addition of curing salts made inhibition of most microorganisms difficult, particularly in the case of *S. aureus*, except for formulations added of *L. sake*, for which synergistic effect between the culture and the curing agent was observed, though unsatisfactory to ensure safety of the product. Data obtained was not enough to conclude about differences between effects of addition or not of starter cultures, and its composition, over inhibition of microorganisms. Even though salami is a product which does not provide good microbial growth conditions, when initial contamination of *S. aureus*, and possibly of other pathogens, is high, it will remain in the product that reaches consumers with high microbial loads.

Key-words: Italian salami, starter cultures, nitrite and nitrate, sausage dry, *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus sake* 2a , curing process, shelf-life

I- INTRODUÇÃO

1- Aspectos gerais relacionados ao uso de culturas no processamento de embutidos

No passado, antes do advento da refrigeração, a carne era consumida logo após o abate do animal, antes mesmo que os contaminantes microbianos pudessem desenvolver-se a ponto de deteriorá-la ou produzir toxinas (BROWN, 1982). Com os avanços tecnológicos e posterior utilização de refrigeração, a deterioração passou a ser parcialmente controlada, entretanto, posteriormente os microrganismos deteriorantes tornaram-se adaptados ao meio refrigerado (GARCIA de FERNANDO *et al.*, 1995; BORCH *et al.*, 1996), tornando-se um novo problema quanto à qualidade do produto.

A avaliação da qualidade tem como principal parâmetro o grau de contaminação microbiológica do produto, sendo importante o emprego de boas práticas de processamento (GMP) durante as operações de processamento da carne, bem como o emprego de métodos adequados de conservação, como o uso do frio, para que o tempo de armazenamento seja prolongado (PEARSON & DUTSON, 1994). Os produtos alimentícios que não necessitam de refrigeração são de especial interesse para países em desenvolvimento, devido ao alto custo da refrigeração e sua baixa disponibilidade. À medida que o produto não necessita de refrigeração, a sua distribuição torna-se simplificada aumentando a economia de energia durante a estocagem (FERNÁNDEZ-SALGUERO, 1995; LEISTNER, 1995a).

Para se entender a microbiota deteriorante que se desenvolve na carne durante o armazenamento é necessário conhecer a microbiota contaminante inicial, as condições necessárias para o desenvolvimento dos microrganismos, as alterações provocadas pelo crescimento e as interações existentes entre as espécies (GRAU, 1981; ADAMS & HALL, 1988).

Condições higiênicas inadequadas durante o processamento são as principais causas de toxinfecções alimentares. Grande parte dos surtos de intoxicação alimentar por *Staphylococcus* spp. origina-se da manipulação de alimentos por pessoas contaminadas por espécies de estafilococos enterotoxigênicos (MANDIL *et al.*, 1982; TROLLER, 1983).

Na fabricação de produtos cárneos os processos microbianos e enzimáticos auxiliam na obtenção de propriedades específicas que caracterizam determinados produtos. É o que ocorre especialmente no caso da fabricação de embutidos crus ou curados (KUNZ, 1986). A fermentação de produtos com a utilização de bactérias lácticas é uma das formas de bioconservação mais antigas (DALY & DAVIS, 1998). No Brasil, a manipulação de embutidos crus fermentados teve sua origem na colonização de imigrantes alemães e italianos, principalmente na região sul do país, onde a industrialização desses produtos constitui um importante segmento da indústria de carne (CASTRO *et al.*, 2000).

Os embutidos cárneos fermentados constituem-se da mistura de carnes bovinas e suínas cruas, condimentos, sal, conservantes (nitrito e nitrato), antioxidantes (ácido ascórbico e eritórbico), aromatizante, culturas *starter* e açúcar. A mistura é embutida em tripas finas de bovinos, ovinos, caprinos ou vitela, celulose e, conforme o tipo, submetida à defumação ou cozimento e secagem a frio (HUGAS & MONFORT, 1997; CAVENAGHI & OLIVEIRA, 1999; CAPLICE & FITZGERALD, 1999).

As culturas *starter* consistem de preparações de microrganismos biologicamente ativos que auxiliam no desenvolvimento da fermentação de determinados substratos durante sua atividade metabólica. Em via de regra, mas não necessariamente, os microrganismos multiplicam-se utilizando os nutrientes presentes na matéria-prima ou através de outros aditivos adicionados ao produto. A qualidade do embutido a ser considerada está relacionada aos aspectos sensoriais, microbiológicos, bem como tecnológicos. Os argumentos relacionados nas fabricações de produtos cárneos envolvem: conhecimento do microrganismo em nível taxonômico; estabilidade microbiológica para o desenvolvimento das propriedades físico-químicas, pureza biológica e, principalmente, segurança (HAMMES & HERTEL, 1998). Na indústria cárnea, bactérias lácticas estão sendo amplamente utilizadas como culturas *starter* para impedir a multiplicação de microrganismos indesejáveis e/ou, para o desenvolvimento de sabor na fabricação de produtos cárneos fermentados. A adição de bactérias produtoras de bacteriocinas na matéria-prima resulta em uma importante barreira para impedir a deterioração do

produto e inibir certas bactérias patogênicas presentes na matéria-prima (ECKENER, 1992; PIRONE *et al.*, 1996; SAMESHIMA *et al.*, 1998).

As bactérias lácticas atuam como bioconservantes proporcionando um efeito inibitório contra outros microrganismos, como resultado de competição por nutrientes e/ou pela produção de bacteriocinas e outros componentes inibitórios. As bacteriocinas por elas produzidas são estruturas liberadas extracelularmente, como peptídeos ou moléculas protéicas, tendo efeito bactericida. Algumas, no entanto, acabam atuando com efeito bacteriostático (SCHILLINGER *et al.*, 1996; DABÉS *et al.*, 2001).

Além das bactérias lácticas, pode-se utilizar representantes dos gêneros *Staphylococcus* spp. (não patogênicas) e *Micrococcus* spp., que promovem a formação de cor sem ocasionar a acidificação ao produto. Os referidos gêneros também se destacam pela capacidade de desenvolverem o aroma e sabores característicos nos embutidos, através da síntese de enzimas proteolíticas e lipolíticas. É muito comum encontrar culturas com uma combinação entre as bactérias dos diversos gêneros como, por exemplo, *Pediococcus* e *Staphylococcus*, que seria a combinação entre um microrganismo acidificante e outro que ajuda no desenvolvimento de coloração no produto (BACUS, 1984a, 1986; TERRA, 1998).

As indústrias cárneas estão utilizando cada vez mais bactérias lácticas como culturas *starter* para a inibição da multiplicação de *S. aureus* durante a fabricação de produtos cárneos fermentados (RACCACH & BAKER, 1978; BACUS, 1984a; MARCY *et al.*, 1985). As espécies pertencentes ao gênero *Staphylococcus* caracterizam-se por sua halotolerância e capacidade de desenvolvimento em baixos valores de atividade de água (SPERBER, 1983; BERGDOLL, 1989; JABLONSKI & BOHACH, 2001), o que reforça a preocupação de que *S. aureus* possa suplantar os obstáculos considerados importantes no controle microbiano (PINTO *et al.*, 1998).

2- Qualidade microbiológica da carne e obtenção de embutidos fermentados

Por melhores que sejam os procedimentos higiênicos durante o abate ou nas operações posteriores de processamento, a carne contém uma microbiota contaminante natural. Esta microbiota é composta de diversas espécies e é proveniente dos nódulos linfáticos e do trato intestinal do próprio animal, assim

como oriunda da contaminação externa, como, por exemplo, a causada pelos equipamentos utilizados durante a sangria, esfolagem, abertura da carcaça e preparação da carne, pelo ambiente ou pelas mãos do próprio manipulador (HUGA & MONFORT, 1997; JAY, 2000).

Fatores importantes que determinam a qualidade microbiológica da carne são, entre outros, a higienização dos animais antes do abate, as condições higiênicas nos locais de abate e de processamento, o tempo e a temperatura do local de desossagem, as condições de estocagem e a sua distribuição (NOTTINGHAM, 1986).

Durante o abate dos animais, preparação de suas carcaças, conversão dos músculos em carne e sua subsequente comercialização para o consumo humano, desenvolvem-se vários processos de manipulação, podendo ocorrer, desta forma, um aumento na contaminação microbiológica (SILVA & BERAQUET, 1998).

Segundo BRYAN *et al.* (1984), contaminações podem ocorrer quando manipuladores processam alimentos utilizando o mesmo equipamento que previamente fora utilizado, ou ainda, através de utensílios previamente utilizados em áreas de preparações. Algumas técnicas de conservação têm sido aplicadas em produtos cárneos e estas têm envolvido a introdução de uma microbiota competitiva de bactérias lácticas como culturas protetoras (HUGA & MONFORT, 1997; JAY, 2000).

A carne é um veículo em potencial de microrganismos patogênicos. Sendo assim, a utilização de microrganismos úteis poderá vir a inibir a multiplicação daqueles prejudiciais, como é o caso de *S. aureus*. *Clostridium botulinum* é um patógeno deveras preocupante para as indústrias de conservas de carne, cuja germinação, bem como a produção de toxina, pode ser combatida com o uso conveniente de culturas *starter*, que também impedem o desenvolvimento de enterobactérias e coliformes.

Os microrganismos utilizados na fermentação da carne são *Pediococcus pentosaceus*, *Pediococcus acidolactis* ou *Lactobacillus plantarum*, caracterizados pela formação de ácido láctico ao atuarem sobre um substrato de açúcar. Microrganismos dos gêneros *Staphylococcus* e *Micrococcus* (*Micrococcus varians*, *Streptococcus lactis* e *Staphylococcus xylosum*) também são utilizados (TERRA,

1993a). MORITA *et al.* (1998) citaram que o *S. xylosus* é utilizado como cultura *starter* em produtos cárneos por não estar associado com infecção humana ou animal.

A fermentação e a secagem também são considerados métodos de conservação de alimentos, sendo utilizados pelo homem há muito tempo. Os embutidos fermentados caracterizam-se pelo seu baixo teor de umidade e atividade de água e a presença de ácido lático em concentração que confere ao produto um sabor agradável. A fabricação de embutidos tem como princípio básico a utilização de métodos combinados de conservação, com a redução da atividade de água e o pH do produto, permitindo a obtenção de um produto estável à temperatura ambiente (YAMADA & BERAQUET, 1993; CAPLICE & FITZGERALD, 1999).

CAPLICE & FITZGERALD (1999) relataram que as definições para o termo “fermentação” são aplicadas para descrever estritamente processos anaeróbicos. Entretanto, o termo relaciona-se para ambos os processos (aeróbico e anaeróbico), nos quais ocorrem a utilização de carboidratos disponíveis na matéria-prima ou ainda adicionada ao produto. Muitos alimentos fermentados, incluindo os produtos mais comuns, bem como os menos caracterizados, são dependentes de bactérias lácticas para mediar o processo de fermentação. Ao final do processamento, a fermentação realizada pelas bactérias lácticas contribui, não somente para a conservação do produto, mas também para a obtenção de sabor, aroma e textura, auxiliando nas características únicas do produto. A fermentação pode também tornar alguns alimentos comestíveis, como é o caso da fermentação da mandioca, que promove a redução da toxicidade do substrato (CAPLICE & FITZGERALD, 1999).

GOMIDE *et al.* (1997) descreveram que as baixas populações de microrganismos encontrados em embutidos fermentados se devem, dentre outros fatores, à baixa umidade do produto, à provável produção de bacteriocinas e à efetiva produção de ácido lático com conseqüente redução do pH, oriundos da inoculação e desenvolvimento de culturas *starter*.

O processo tecnológico que define os embutidos fermentados compreende uma moagem de carne *in natura* em uma granulometria variando de grosseira a fina, conforme o tipo de produto. Posteriormente ocorre a maturação, empregando-se microrganismos desejáveis, conduzida em condições controladas de temperatura e umidade relativa durante período que varia de dias a meses. Estes produtos podem

ser defumados ou não, fermentados por bolores, com estabilidade microbiológica assegurada pela redução da atividade de água e/ou pH (LEISTNER, 1990).

Existe uma grande variedade de embutidos fermentados, produzidos por diferentes técnicas. A preferência do consumidor varia de acordo com o país ou mesmo em regiões do mesmo país (LÜCKE, 1994). A formulação comumente utilizada contém partes iguais de carnes suínas ou bovinas e toucinho costado-lombar de suínos. Em alguns países, utiliza-se apenas carne suína ou bovina, e em outros locais, gordura proveniente de carneiro.

Vários autores relatam variações no tipo de matéria-prima empregada na elaboração de embutidos fermentados. ACTON & DICK (1975) utilizaram carne de peru para a produção de embutido fermentado, estudando a influência de vários parâmetros de processamento, tais como temperatura e porcentagem de gordura, nas características sensoriais do produto. KLETTNER *et al.* (1989) relataram o processamento de salame a partir de misturas em partes iguais de carne ovina, bovina e suína. Em alguns estudos, foi utilizada a carne de frango mecanicamente separada (CFMS), obtendo-se bons resultados em relação à qualidade organoléptica com adições de até 37% de CFMS, assim como, não havendo influência na redução do pH durante o processamento com adições de até 25% (SILVA, 1990; GARCIA de FERNANDO, 1995). Em alguns países, como a Noruega, são produzidos embutidos fermentados secos com carne ovina (HELGESEN & NAES, 1995). HWANG *et al.* (1989) prepararam embutidos fermentados com carne de bacalhau, misturado com carne de frango, bovina ou suína. Os embutidos formulados com carne de bacalhau foram considerados aceitáveis, porém alguns provadores perceberam o sabor de peixe nos embutidos mistos de carne de peixe e frango. BÖHME *et al.* (1996) relataram a utilização de carne de avestruz na formulação de salame tipo Italiano, utilizando diferentes culturas *starter*, concluindo que a melhor combinação para este tipo de carne seria aquela composta pelos gêneros *L. curvatus* e *Micrococcus* sp., resultando em um salame com qualidade organoléptica aceitável.

Os embutidos fermentados são classificados como produtos secos ou semi-secos e geralmente não são emulsionados. Embutidos semi-secos normalmente são defumados e submetidos à temperatura de pelo menos 63°C, enquanto que os secos

não são cozidos e podem ser defumados ou não, sendo mais secos e firmes que os semi-secos (HUST, 1977; PEARSON & TAUBER, 1984; JAY, 2000).

Durante a fermentação, o produto sofre acidificação através da ação das bactérias lácticas, reduzindo o pH de 5,8 – 6,3 para 4,8 – 5,3, dentro de um certo período de tempo, sendo posteriormente desidratado para remover 25 a 50% (secos) e 10 a 15% de umidade (semi-secos). A fermentação permite ao produto uma liberação mais uniforme e rápida de água durante a etapa de secagem. O ácido láctico atua na desnaturação de proteínas, resultando em uma textura firme, inibição do crescimento de microrganismos indesejáveis e fornecimento de sabor e aroma característicos deste produto (PEARSON, 1984; BACUS 1984b; LÜCKE, 1998; JAY, 2000).

O processo de fabricação consiste na formulação, através da mistura das carnes, condimentos, sais de cura e outros ingredientes a baixas temperaturas (temperatura da carne de -10 a +2°C; toucinho, -15 a +5°C), seguida da preparação da massa em misturadeiras ou “cutters” e do embutimento em envoltórios próprios. A seguir, os embutidos são mantidos entre 18 a 26°C e submetidos à secagem em temperaturas de 10 a 21°C e umidade relativa controlada (PEARSON & TAUBER, 1984; BACUS, 1984b; LÜCKE, 1998).

A aplicação de um processo adequado de fermentação para a produção de embutidos cárneos proporciona condições vantajosas ao desenvolvimento de microrganismos desejáveis que, por sua vez, suprimem os microrganismos indesejáveis, que poderiam deteriorar o produto ou causar toxinfecção alimentar (LEISTNER, 1990).

3- Emprego de culturas *starter* na fabricação de embutidos

Como a carne é considerada um excelente meio para o desenvolvimento de microrganismos, a utilização de culturas *starter* puras ou mistas objetiva originar uma população microbiana que possibilite que a cultura inoculada supere a microbiota contaminante ou mesmo natural da matéria-prima. O emprego de culturas *starter* em combinação com uso de boas práticas de processamento garante a segurança e a qualidade do produto final (BACUS & BROWN, 1981; JESSEN, 1995; GOMIDE, 1997; OSEI ABUNYEWA *et al.*, 2000). Em condições controladas,

a seleção de linhagens pode induzir atividades enzimáticas e produzir modificações específicas ao substrato (LIEPE, 1981), assim como possibilitar a eliminação de bactérias potencialmente prejudiciais como salmonela, estafilococos e clostrídios (OSEI ABUNYEWA *et al.*, 2000).

Ao contrário do que ocorre com *Pseudomonas* spp. e bactérias lácticas, que são microrganismos inerentes da carne, a presença de *Escherichia coli* na matéria-prima se deve pela contaminação por fezes de animais ou à contaminações externa (RICKE *et al.*, 2001). Segundo DILLON (1998), bolores e leveduras dos gêneros *Candida*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula* spp., *Aspergillus* e *Penicillium* spp. são comumente isolados das áreas de processamento, superfície de carcaças e produtos cárneos. *Penicillium* e *Aspergillus* spp. multiplicam-se quando houver poucas bactérias competindo, sendo estes importantes indicadores em produtos cárneos com baixo pH, tais como os fermentados ou curados por bactérias lácticas e processados com baixa atividade de água.

Diversos surtos de origem alimentar envolvendo produtos cárneos fermentados ocorreram nos EUA na década de 90. Em consequência disso, as autoridades exigiram a redução de 5 log na população de patógenos, especialmente *E.coli* O157:H7, na fabricação de salame fermentado seco e semi-seco. Um surto alimentar envolvendo *E. coli* O157:H7 tendo como veículo salame seco curado ocorreu nos estados da Califórnia e de Washington – EUA, em 1994, com 23 vítimas. Após esse episódio, uma série de estudos foram conduzidos nas condições de preparo do salame Peperoni visando estabelecer parâmetros para a redução de 5 log na população de patógenos específicos. Para o salame Peperoni fatiado, a obtenção da redução de 5 log foi obtida com a cura de 2 semanas em temperatura ambiente e exposição ao ar. Em outro estudo, a redução de 5 log da população de *E. coli* O157:H7 foi obtida com a fermentação a 41°C até pH 4.6 ou 5.0 e aquecimento pós-fermentação até temperatura interna de 54°C por 30 minutos. Em um estudo com salame Peperoni inoculado de *Salmonella typhimurium* DT104, foi concluído que, por ser este patógeno mais sensível que *E. coli* O157:H7, os tratamentos propostos para a destruição deste último foram adequados para a redução de mais de 5 ciclos logarítmicos da primeira (JAY, 2000).

Somente nos EUA estima-se que as doenças de origem alimentar afetam, a cada ano, 76 milhões de pessoas, causando mais de 5000 óbitos e um custo financeiro aproximado de 5 bilhões de dólares (ALTEKRUSE *et al.*, 1997; MEAD *et al.*, 1999). As intoxicações estafilocócicas resultantes do consumo de alimentos contaminados são a segunda causa mais comum de doenças de origem alimentar (BALABAN & RASSOLY, 2000).

Em alguns países da América Latina, as intoxicações estafilocócicas continuam sendo a doença de origem alimentar mais freqüente. No Brasil, 30 surtos foram investigados no período de 1988 a 1990, com a maioria tendo sido atribuída ao queijo branco ou bolos recheados com creme. *S. aureus* enterotoxigênicos foram isolados de diversos alimentos incluindo laticínios e produtos marinhos (JABLONSKI & BOHACH, 2001).

A utilização de microrganismos incorporados em diferentes alimentos vem proporcionando não só a melhoria em sua qualidade, como também, em muitos casos, a obtenção de propriedades organolépticas específicas. A conservação de alimentos pela fermentação depende dos princípios da oxidação de carboidratos e derivados relativos gerados ao final do produto, os quais são geralmente ácidos, álcoois e/ou dióxido de carbono (KUNZ, 1986; PIRONE *et al.*, 1996; SAMESHIMA *et al.*, 1998; CAPLICE & FITZGERALD, 1999).

SMITH & PALUMBO (1981); KUNZ (1986); MONTEL *et al.* (1996) e HUGAS & MONFORT (1997) citaram que diferentes microrganismos são utilizados na indústria cárnea para a produção de embutidos crus ou cozidos, proporcionando melhoria na qualidade e um aprimoramento organoléptico dos diferentes produtos. PIRONE *et al.* (1996) descreveram que a inoculação de linhagens bacterianas que permite a obtenção de produtos com propriedades sensoriais típicas, bem como, a redução no tempo de maturação cujo objetivo é de grande importância para a indústria e economia.

CAPLICE & FITZGERALD (1999) relataram que as bactérias lácticas são envolvidas nos processos de fermentação de leite, carnes, cereais e vegetais. Embora muitas fermentações são tradicionalmente dependentes de uma inoculação prévia de culturas *starter*, estas são empregadas em muitos processos como a fabricação de queijo, assegurando assim a consistência do processo e a qualidade do produto.

BUCKENHÜSKES (1994) e HUGAS & MONFORT (1997) descreveram que as culturas *starter* podem ser divididas em duas categorias em embutidos cárneos. A primeira geração, com preparações de culturas *starter* contendo bactérias lácticas originadas de materiais coletados (*L. plantarum* e *P. pentosaceus*) e a segunda geração de culturas, contendo bactérias originárias da própria carne, sendo assim, especialmente adaptadas à ecologia da carne fermentada.

As culturas *starter* são adicionadas aos produtos cárneos para proporcionar uma maior confiabilidade em termos de saúde pública, menor tempo de fermentação e obtenção de um produto final de qualidade e aumento da vida-de-prateleira. A adição de culturas *starter* constitui um fator de segurança a mais que as indústrias possuem, garantindo a obtenção de um produto com características próprias e qualidade. As culturas de bactérias podem ser consideradas como aditivos e estão disponíveis comercialmente na forma liofilizada, podendo também ser adquiridos na forma congelada (BACUS, 1984b; BUSANI, 1990; CAPLICE & FITZGERALD, 1999).

A obtenção de uma fermentação eficaz é importante selecionar uma combinação apropriada de culturas *starter*, ingredientes e condições de fermentação, que permita condições propícias à multiplicação dos microrganismos e produção de ácido, ao mesmo tempo minimizando a multiplicação de microbiota indesejável (CONVENTRY & HICKEY, 1991).

As culturas *starter* atualmente comercializadas são geralmente compostas de uma mistura de diferentes gêneros, visando somar suas ações e características de cada uma para obtenção de um efeito desejável ao produto final. Os microrganismos mais frequentemente empregados na obtenção de produtos cárneos fermentados são as bactérias lácticas pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Pediococcus*. Os mesmos são caracterizados pela formação de ácido láctico ao atuarem sobre um substrato de carboidratos (sacarose, glicose, frutose ou malto-dextrina) e tolerar altas concentrações de ácido láctico, sendo de grande valor seletivo para a eliminação de bactérias patogênicas ou competidoras. Os lactobacilos são utilizados quando se deseja uma acidificação rápida, sendo catalase-positivo na presença da mioglobina. Apresentam crescimento na faixa de 15 a 35°C, com temperatura ótima de 30 a 35°C e não possuem a enzima nitrato redutase. Já as bactérias do gênero *Pediococcus* são

catalase-negativas, não redutoras de nitrato e também são acidificantes (BACUS, 1984a; TERRA, 1998). As bactérias do gênero *Pediococcus* são amplamente utilizadas quando se deseja uma acidificação mais natural do que a proporcionada por lactobacilos (BACUS, 1984a).

SAMESHIMA *et al.* (1998), concluíram que algumas culturas probióticas do gênero *Lactobacillus* poderiam ser aplicadas na fermentação de carne. Experimentos realizados com 202 cepas de *Lactobacillus* de origem intestinal verificaram que três (*L. acidophilus* FERM P-15119, *L. rhamnosus* FERM P-15120 e *L. paracasei* subesp. *paracasei* FERM P-15121) possuíam tolerância ao cloreto de sódio e nitrito em um meio líquido, tendo sido selecionados. Das linhagens estudadas, *L. rhamnosus* e *L. paracasei* subesp. *paracasei*, bem como *L. sake*, uma cultura *starter* comercial, inibiam a multiplicação de *Staphylococcus aureus* e a produção de enterotoxina durante a fermentação. No entanto, *L. acidophilus* FERM P-15119 não se revelou adequado ao controle da multiplicação microbiana.

De TONI *et al.* (1994) concluíram que *Lactobacillus plantarum* atuam mais intensamente na decomposição do nitrito no início do período de maturação, enquanto que *Pediococcus pentosaceus* age lentamente, porém prolongamente, no salame tipo Italiano. Segundo os autores, a utilização de bactérias lácticas favorece a decomposição de nitrito, pois ela promove a redução do pH do produto, recomendando-se uma adição de cerca de 10^6 UFC/g de *Lactobacillus plantarum*. Essa concentração oferece, ainda segundo os autores, valores menores de nitrito residual e pH, o que representa vantagem quanto à qualidade microbiológica e à possibilidade de não originar compostos carcinogênicos.

Uma característica importante para a utilização de bactérias em embutidos é a capacidade de promoverem a intensificação da cor e odor em embutidos e, ainda, resistirem ao ácido láctico produzido pelos gêneros *Lactobacillus* spp. e *Pediococcus* spp. Estas características podem ser obtidas através da adição de *Staphylococcus carnosus* e *Staphylococcus xylosus*, os quais também possuem baixa atividade lipolítica e proteolítica, bem como, não produzem acetoína (MONTEL *et al.* 1996; SORENSEN & JAKOBSEN, 1996).

Representantes da família *Micrococcaceae* ocorrem naturalmente em carnes, desenvolvendo-se, ou ainda, podendo ser inoculados, realizando um importante papel

por meio da atividade da enzima nitrito redutase. Esta atividade permite a redução de nitrato em nitrito contribuindo desta forma para a conservação, formação de cor e aroma (FLORES & TOLDRÁ, 1993; MONTEL *et al.*, 1996; SANZ *et al.*, 1997).

Representantes desta família possuem a enzima catalase envolvida na estabilização da cor do produto, bem como, importante papel na conservação, a fim de evitar a rancificação e garantir a formação do aroma (GEISEN *et al.*, 1992; SANZ *et al.*, 1997).

É muito comum encontrar culturas microbianas comerciais combinadas com diversos gêneros como, por exemplo, *Pediococcus* e *Staphylococcus xylosus*, que seria a combinação entre microrganismos acidificantes com outros que desenvolveriam a cor dos produtos.

Em alguns embutidos fermentados, utilizam-se bolores na região externa do produto. Os bolores produzem enzimas lipolíticas específicas que degradam a gordura e conferem um forte aroma característico dos salames. Além disso, podem produzir antibióticos que afetam a microbiota bacteriana da superfície, contribuindo para um produto final de melhor qualidade. Os bolores têm atividade catalítica e algumas espécies são redutoras de nitrato, modificando a cor da superfície do embutido. A formação de uma cobertura sobre a superfície reduz a rancidez, por impedir a penetração de oxigênio ao interior do produto cárneo (BACUS, 1984b; TERRA, 1998).

4- Adição de sais de cura e a qualidade de produtos cárneos durante a vida-de-prateleira

A adição de nitratos e nitritos em carnes curadas tem diversas finalidades. Entre elas, destaca-se a estabilização da cor dos tecidos magros, a contribuição com o aroma característico da carne, a diminuição da velocidade de desenvolvimento de ranço e a inibição de diversos microrganismos patogênicos e deteriorantes. O ácido nitroso, resultante da quebra do nitrito, reage com a mioglobina dando origem a nitrosomioglobina, responsável pela cor característica de carnes curadas (PEARSON & GILLET, 1996). Entretanto, a reação do nitrito com aminas secundárias pode dar origem a nitrosaminas, que são substâncias carcinogênicas (De TONI *et al.*, 1994; ANJOS *et al.*, 1996). As bactérias lácticas podem atuar na redução dessas substâncias

até nitrogênio elementar, diminuindo, assim, a formação de nitrosaminas (BALDUINO, 1999).

O emprego de nitrito de sódio como composto antimicrobiano em carnes curadas está principalmente relacionado à inibição da multiplicação de microrganismos esporulados, bem como, direcionado a evitar a produção de toxinas por *Clostridium botulinum*. Entretanto, o efeito inibitório do nitrito contra outras bactérias, como *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Achromobacter*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus* e *Salmonella*, em determinadas condições, tem sido descrito. Por outro lado, algumas espécies de *Salmonella*, *Lactobacillus* e *Bacillus* foram descritas como resistentes a esse composto. O mecanismo de inibição do nitrito contra microrganismos não formadores de esporos, como *Pseudomonas aeruginosa*, tem sido atribuído à inibição do transporte ativo, da captura de oxigênio e da fosforilação oxidativa, através da inibição da citocromo oxidase (DAVIDSON, 2001).

Na determinação da vida-de-prateleira de produtos cárneos, é comum o estudo de parâmetros microbiológicos, químicos e sensoriais. Análises microbiológicas e sensoriais podem ser realizadas durante a vida-de-prateleira esperada, bem como após este período. Os produtos devem ser analisados no dia em que foram processados e pelo menos três vezes durante a vida-de-prateleira projetada (EBURNE & PRENTICE, 1996).

As características dos produtos cárneos podem ser melhor descritas através do auxílio de painéis treinados. Além da análise sensorial, é necessário realizar análises microbiológicas do produto, a qual possibilita melhor compreensão das alterações que possam ocorrer durante a estocagem. Análises químicas também são necessárias para o acompanhamento de evolução da oxidação dos produtos, através de índice de peróxidos ou número de TBA, redução dos níveis de nitrito e teor de nitrogênio, que dariam alguma indicação de proteólise em carnes (EBURNE & PRENTICE, 1996).

Produtos cárneos fermentados tradicionalmente têm apresentado vida-de-prateleira consideravelmente longa, através de combinação do baixo teor de umidade e pH, sendo estáveis à temperatura ambiente. No entanto, estes produtos não estão limitados à deterioração microbiana, mas a alterações químicas e/ou físicas (BACUS,

1984b). Devido ao alto teor de gordura e baixa atividade de água destes produtos, um dos principais responsáveis pela sua deterioração é a rancidez, desenvolvendo um sabor e aroma rançoso, perda ou alteração de pigmentos e perda de vitaminas (LABUZA, 1982; MELTON, 1983; PEARSON & TAUBER, 1984; RHEE, 1989; SINGH, 1996). A rancidez pode se causada pela hidrólise ou oxidação. Lipases originárias de bactérias provocam hidrólise dos triglicerídeos, produzindo ácido graxos livres, enquanto que as oxidases promovem oxidação. A rancidez em carnes geralmente não é causada pela ação bacteriana, mas pela reação do oxigênio com gorduras insaturadas, luz e pró-oxidante (PEARSON & TAUBER, 1984).

Produtos processados que passam por processos de moagem, cominuição, entre outras etapas, estão suscetíveis à oxidação de lipídeos e desenvolvimento de “off-flavors”. A oxidação de lipídeos também está positivamente correlacionada com a oxidação de pigmentos, mas a base desta relação ainda não foi completamente elucidada. Do ponto de vista da cor do produto cárneo, supõe-se que produtos originários da oxidação de lipídeos promovam a oxidação de pigmentos e/ou indiretamente, degradam os pigmentos (GRAY *et al.*, 1996).

A oxidação de uma pequena quantidade de gordura é suficiente para que o consumidor detecte aromas e sabores associados à alteração e conseqüentemente rejeitem o produto. A exclusão do oxigênio, baixas temperaturas e/ou uso de antioxidantes são necessários para controlar a oxidação. O fenômeno da oxidação também é extremamente dependente do teor de umidade (LABUZA, 1982; SINGH, 1996).

5- Características do *Staphylococcus aureus*

Em estudos realizados nos Estados Unidos, foi verificado que produtos derivados de carne são considerados os alimentos mais freqüentemente veiculadores de *Staphylococcus aureus* (SCHEUSNER & HARMON, 1973; SMITH *et al.*, 1983; ADAM & MOSS, 1997). *Staphylococcus aureus* é uma bactéria comum presente em locais destinados a cortes e mistura de carne, podendo contaminar a planta de processamento (GONZÁLES-FANDOS *et al.*, 1999).

As bactérias do gênero *Staphylococcus* são cocos Gram-positivos, não produtores da enzima oxidase, anaeróbios facultativos, produtores da enzima catalase

sendo ainda fortemente positivos, imóveis, não fotossintéticos e não formadores de esporos. São pertencentes à família Micrococcaceae e por dividirem-se em planos diferentes, quando vistos ao microscópio aparecem na forma de cachos. São microrganismos mesófilos, com temperatura ideal de crescimento a 37°C, com algumas linhagens se desenvolvendo melhor em temperaturas de 35°C e 40°C. Para algumas cepas os valores mínimos de multiplicação atingem 10°C (BERGDOLL, 1979; FRANCO & LANDGRAF, 1996; ADAMS & MOSS, 1997; JAY, 2000).

A produção de enterotoxinas por esses microrganismos ocorre entre 10° a 46°C, com ótimo entre 40° e 45°C. Os extremos de temperatura estão na dependência dos demais parâmetros, que devem encontrar-se em condições ótimas. Os surtos de intoxicação alimentar são provocados por alimentos que permanecem neste intervalo de temperatura por tempo variável, de acordo com o nível de inóculo e a temperatura de incubação (FRANCO & LANDGRAF, 1996). ADAMS & MOSS (1997) e JAY (2000) descreveram que a multiplicação de *S. aureus* ocorre em valores de pH de 6,0 a 7,0, com limites mínimos e máximos de 4,0 a 10,0. A escala de pH para a produção de enterotoxina é mais reduzida, produzindo pequenas quantidades em pH 6,0, o mesmo ocorrendo para o crescimento. No entanto, os valores exatos também variam de acordo com a composição do meio. Apesar das características próprias e condições de processamento do embutido, *S. aureus* pode multiplicar-se e produzir toxinas durante os estágios iniciais da fermentação (SAMESHIMA *et al.*, 1998, GONZÁLES- FANDOS, 1999).

Um dos importantes fatores de crescimento dos estafilococos, e sua conseqüente produção de enterotoxinas, são os valores de atividade de água. O limite de atividade de água que não compromete o crescimento é de 0,84 a 0,86 (VARNANS & EVANS, 1991, ADAMS & MOSS, 1997). Porém, para a produção de enterotoxinas são necessários valores de atividade de água maiores, de 0,90 a 0,98 (TROLLER, 1971).

As condições atmosféricas também influenciam a multiplicação de *S. aureus*. Quanto menor a tensão de oxigênio presente, mais lento o crescimento e a produção de enterotoxinas. Em condições anaeróbicas, também foi evidenciada a produção de enterotoxinas, segundo experimentos realizados utilizando carnes curadas. Em geral, quanto menor for a temperatura, maior será o tempo necessário para a produção de

enterotoxina. Em condições ótimas, a enterotoxina forma-se em quatro a seis horas (GENIGEORGIS, 1969; FRANCO & LANDGRAF, 1996).

De acordo com as descrições de FRANCO & LANDGRAF (1996), GONZÁLES- FANDOS (1999) e JABLONSKI *et al.* (2001), as bactérias do gênero *Staphylococcus* spp. são reconhecidas por adquirirem resistências gênicas a metais pesados e agentes antimicrobianos. Também são tolerantes a concentrações de 10% a 20% de NaCl e a nitratos, o que torna os alimentos curados potenciais veículos para as mesmas e também pela capacidade de multiplicação em diferentes meios.

6- Destruição microbiana e valor D

Quando uma população de microrganismos é exposta a um processo de esterilização, a taxa de morte pode ser descrita em termos matemáticos. A destruição térmica de uma população homogênea de microrganismos é logarítmica, equivalente à cinética química de uma reação de primeira ordem. O fenômeno de destruição pode ser representado pelo modelo de curva linearizada, semi-logarítmica de sobreviventes. A representação gráfica do logaritmo decimal de sobreviventes em relação ao tempo de exposição à temperatura resulta em curva linearizada decrescente (FARKAS, 1997; PENNA, 1997).

Para o modelo de curva semi-logarítmica de sobreviventes, o tempo necessário para a destruição de 90% da população é o intervalo de tempo exigido para a curva percorrer 1 (um) ciclo logarítmico. O intervalo de tempo de redução decimal (valor D) é o principal parâmetro de avaliação das características de resistência da população microbiana homogênea, sendo normalmente aplicado a tratamentos térmicos (FARKAS, 1997; PENNA, 1997).

7- Os embutidos fermentados e a tecnologia dos obstáculos

Muitos dos alimentos que permanecem estáveis e seguros durante estocagem prolongada sem refrigeração são os alimentos de umidade intermediária (FERNÁNDEZ-SALGUERO, 1995; LEISTNER, 1995b).

Estes produtos podem ser elaborados utilizando-se a teoria dos obstáculos, uma extensão do conceito de alimentos de umidade intermediária (LEISTNER, 1995b). Segundo este conceito, o resfriamento poderia ser substituído, pelo menos

parcialmente, por obstáculos ao desenvolvimento microbiano, onde a menor redução da atividade de água é compensada pela ação conservante de outros fatores, tais como redução do pH, tratamento térmico brando, utilização de aditivos, microbiota competitiva, embalagem, entre outros. Como os fatores de conservação nos métodos combinados são utilizados em menor intensidade, as modificações no alimento são menos radicais do que nos alimentos de umidade intermediária propriamente dita (AGUILERA & CHIRIFE, 1994; HOCKING & CHRISTIAN, 1995; LEISTNER, 1995b).

LEISTNER (1994) descreveu a composição e o processamento de alguns produtos desenvolvidos para fins militares, que poderiam ser utilizados no setor civil, especialmente quando não exigem ambientes com refrigeração. Entre estes produtos, pode-se citar o embutido de fermentação rápida, com pH menor que 5,4 e atividade de água menor que 0,95; o mini-salame (atividade de água menor que 0,82, vida-de-prateleira de 7 meses), entre outros.

Certos tipos de embutidos crus fermentados, quando adotados os critérios de classificação de acordo com atividade de água e pH, são enquadrados na classe de alimentos de umidade intermediária, conservados por métodos combinados. Produtos como presuntos crus e embutidos secos fermentados apresentam atividade de água entre 0,80 a 0,95 (HOCKING & CHRISTIAN, 1995). Quando suficientemente secos, chegam a valores de atividade de água menores que 0,90. Sendo produtos fáceis de preparar e estáveis à temperatura ambiente, podem beneficiar os países em desenvolvimento (LEISTNER, 1995b).

Embutidos fermentados são preferencialmente deteriorados por microrganismos dos gêneros *Penicillium*, *Eurotium*, *Aspergillus*, *Cladosporium* e outros bolores, devido à atividade de água característica destes produtos. Para a sua estabilidade microbiológica, é preciso uma combinação de fatores, tais como atividade de água reduzida, presença de nitrito, baixo pH (5,3-5,8), adição de sal, redução de potencial redox por embalagem a vácuo e, às vezes, tratamento térmico durante processamento (HOCKING & CHRISTIAN, 1995).

Através de uma seqüência de obstáculos, embutidos fermentados têm os microrganismos patogênicos inibidos e a microbiota competitiva selecionada. Nos estágios iniciais do processo de maturação, o nitrito e o sal inibem a maioria das

bactérias, entre elas, as do gênero *Salmonella*. A atividade de água também decresce a 0,96-0,97, ocasionando a inibição da maioria dos microrganismos aeróbios Gram-negativos. A população das bactérias patogênicas também é inibida pela redução de atividade de água para 0,92, com exceção do *Staphylococcus aureus*, cuja multiplicação não pode ser evitada utilizando-se apenas a diminuição de atividade de água, necessitando desta forma de outros obstáculos (AGUILERA & CHIRIFE, 1994). Deste modo, o aumento da população de bactérias lácticas, micrococcos e estafilococos não patogênicos é favorecido, reduzindo o oxigênio disponível e promovendo a redução do pH, inibindo microrganismos como os do gênero *Pseudomonas* e favorecendo ainda mais a microbiota láctica. Desta forma, a estabilidade é alcançada pela ação de cinco obstáculos: conservantes, potencial redox, microbiota competitiva, pH e atividade de água. Estes obstáculos inibem a multiplicação de microrganismos patogênicos como, por exemplo, *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e *Clostridium botulinum*, assim como bactérias responsáveis pela deterioração do produto (LEISTNER, 1994).

HARRIS *et al.* (1989) observaram uma inibição de *L. monocytogenes* pela produção de metabólitos antimicrobianos pelos microrganismos *Staphylococcus xylosus*, *Pediococcus acidilactici* e *Lactobacillus bavaricus*. Em relação à toxina botulínica, a produção de ácido pelas culturas *starter* é responsável pela prevenção da germinação dos esporos, mesmo na ausência de nitrito. Porém, com a diminuição dos níveis de nitrito, a adição de culturas *starter* e carboidratos fermentáveis deve ser rigorosamente controlado para não comprometer a qualidade e segurança do produto (BACUS, 1984b).

8- Salame tipo Italiano

No grupo dos embutidos fermentados destaca-se o salame, que é considerado diferente dos demais embutidos, devido a dois fatores básicos: o baixo teor de umidade e a presença de ácido láctico, que conferem sabor e aroma característicos além de aumentar a vida-de-prateleira (CAVENAGHI, 1999). Sua qualidade é percebida pelo consumidor através da interação complexa entre os componentes químicos e as características físicas. A cor, a textura e a acidez, além da formulação,

têm sido consideradas na identidade e qualidade do produto (DELLAGLIO *et al.*, 1996).

O salame é um derivado cárneo produzido por processos de cura e fermentação láctica. No desenvolvimento da cura, os sais nitrato e/ou nitrito de sódio, ou potássio, são usados como os principais agentes. A presença de coadjuvantes tecnológicos, bem como alterações nos processos de atividades bioquímicas, também proporcionam variáveis de grande influência no aprimoramento da qualidade deste produto. Os coadjuvantes tecnológicos classificados como antioxidantes/estabilizantes (ácido ascórbico ou eritórbito, açúcar e polifosfato) são bastante utilizados e importantes para assegurar maior durabilidade (BOURGEOIS & LARPENT, 1995).

Um detalhe de grande interesse na produção de salame é a redução do tempo de maturação sem afetar as características físico-químicas e sensoriais do produto, principalmente as percebidas pelo consumidor (cor, textura e acidez). Algumas culturas de bactérias lácticas, quando inoculadas, asseguravam ao produto a estabilidade desejada resultando em menor variação da qualidade (CAVENAGHI, 1999).

A qualidade do salame tipo Italiano depende das características dos ingredientes da formulação que influenciam a ação da cultura *starter*. A associação de bactérias pode promover benefícios tecnológicos como, por exemplo, redução do tempo de maturação e principalmente conferir ao produto final características físico-químicas e organolépticas próximas ao salame produzido sem a adição de culturas (CAVENAGHI, 1999). Normalmente utilizam-se culturas *starter*, contendo microrganismos que melhoram significativamente a qualidade dos embutidos crus, sobretudo no desenvolvimento de cor, sabor e consistência (STIEBING, 1990). Os açúcares são usados para facilitar a ação das bactérias fermentativas na queda de pH, compensar o efeito desidratante e retirar o amargor provocado pelo sal. Entre os açúcares que estão diretamente disponíveis para os microrganismos, destaca-se a glicose, uma vez que lactose, maltose, amidos, dextrose são de difícil aproveitamento (BASSAN, 1985). Os ácidos formados na degradação são fundamentais para a maturação dos embutidos, cujo processo pode vir a ser controlado a partir dos açúcares (TAKAHASHI, 1980). Na fermentação a desidrogenase láctica reduz o

piruvato a lactato propiciando a queda do pH e, conseqüentemente, as melhores condições para processamento e conservação do salame (CONVENTRY & HICKEY, 1991; CAVENAGHI, 1999).

A maior dificuldade encontrada no processamento de salame em pequena escala, está no controle da temperatura ambiente e umidade relativa do ar, durante as fases de maturação e secagem. As temperaturas elevadas potencializam tanto forças atrativas como repulsivas, constituídas pelas interações hidrofóbicas e eletrostáticas, enquanto que as pontes de hidrogênio estão influenciadas pelo resfriamento (CHEFTEL, 1993). A formação de redes protéicas é resultado do equilíbrio entre as interações proteína- proteína, proteína- água e entre as forças atrativas e repulsivas envolvendo cadeias polipeptídicas adjacentes (FENNEMA, 1993). No início do processo de obtenção do salame, os polifosfatos podem ser usados para aumentar a força iônica do meio, diminuindo a água livre e/ou ativa e, posteriormente, vão atuar pelo efeito de sinergismo com o ácido ascórbico (GLEES, 1980). A concentração protéica, pH, temperatura, tempo, força iônica e a presença de outros componentes afetam as interações proteína- proteína e proteína- água. Conforme citado por GEOFFREY (1984), a maioria das propriedades funcionais estão reguladas por interações entre estas forças, enquanto que as elevadas concentrações de proteínas facilitam interações intermoleculares e a geleificação.

Em estudos de otimização do processo de fabricação de salame tipo Italiano, utilizando-se culturas *starter*, concluíram, por meio de avaliações instrumentais, sensoriais e cálculos estatísticos, sobre a preferência por salames preparados com as misturas de culturas FloraCarn FF-1 e FloraCarn SL (1:1) e as misturas das culturas FloraCarn FF-1, FloraCarn SPX e FloraCarn SL (1:1:1) (CAVENAGHI & OLIVEIRA, 1999). Entretanto, estudou-se a adequação de culturas iniciadoras (*starter*), combinadas com diferentes condições, visando a qualidade e a segurança retirando os sais de cura.

II - OBJETIVOS

Com base no exposto, os principais objetivos do presente trabalho foram:

1- Avaliar a influência da adição de combinações de culturas *starter* e de uma cultura não *starter* produtora de bacteriocina sobre a sobrevivência de *Staphylococcus aureus* artificialmente inoculado em salame tipo Italiano, adicionado ou não de sais de cura, durante a maturação e a vida-de-prateleira do produto.

2- Avaliar a presença e a ausência de sais de cura, bem como a influência de combinações de culturas *starter* e de uma cultura não *starter* produtora de bacteriocina sobre a sobrevivência dos seguintes microrganismos: coliformes totais, *Escherichia coli*, bolores e leveduras naturalmente presente na matéria-prima; mesófilos, bactérias lácticas e *Staphylococcus* spp. presentes na matéria-prima e adicionados às produções, durante a maturação e a vida-de-prateleira do produto.

III - MATERIAIS E MÉTODOS

1- Matérias-primas

As matérias-primas (carne bovina e suína e gordura suína) apresentadas na **tabela 1** foram adquiridas de um único fornecedor. Os aditivos (DCA Ind. e Com. Ltda, Guarulhos, SP), adicionados à massa cárnea eram compostos de: cura padrão (nitrito/ nitrato disperso em sal refinado), agente antioxidante e fixador de cor (ácido ascórbico disperso em açúcar, DCA205), condimento para salame (especiarias naturais dispersa em sal refinado), saborizante (glutamato monossódico), emulsificante e estabilizante de gordura (maltodextrina/ polifosfatos de sódio).

As culturas *starter* FloraCarn FF-1 (*Staphylococcus xylosus* + *Pediococcus pentosaceus*), FloraCarn SPX (*Staphylococcus xylosus* DD34 + *Pediococcus pentosaceus*) e FloraCarn SL (*Staphylococcus carnosus* + *Lactobacillus pentosaceus*) foram gentilmente fornecidas pela Christian Hansen (Valinhos, SP).

Tabela 1: Formulação básica empregada na fabricação de salame tipo Italiano de acordo com CAVENAGHI (1999).

Matéria-prima	Quantidade para 100 Kg de carne
Carne suína (pernil)	60,000 Kg
Carne bovina (acém)	20,000 Kg
Toucinho	20,000 Kg
Cura padrão	0,2500 Kg
Antioxidante DCA 205	0,2500 Kg
Emulsificante	2,0000 Kg
Sal refinado	1,7000 Kg
Condimento para salame	1,0000 Kg
Saborizante	0,5000 Kg
Alho natural	0,3000 Kg
Pimenta branca moída	0,1000 Kg
Culturas <i>starter</i>	0,0250 Kg
Vinho tinto	1,0000 L

2- Fabricação de salame tipo Italiano

Para a execução desta pesquisa foi fabricado salame tipo Italiano, empregando-se a formulação básica apresentada na **tabela 1**, de acordo com as condições preestabelecidas em estudos de superfície de resposta realizados por CAVENAGHI & OLIVEIRA (1999).

O fluxograma do processo, contendo as principais etapas utilizadas na fabricação do salame tipo Italiano, bem como as etapas em que a avaliação microbiológica foi feita, encontra-se apresentados na **figura 1**.

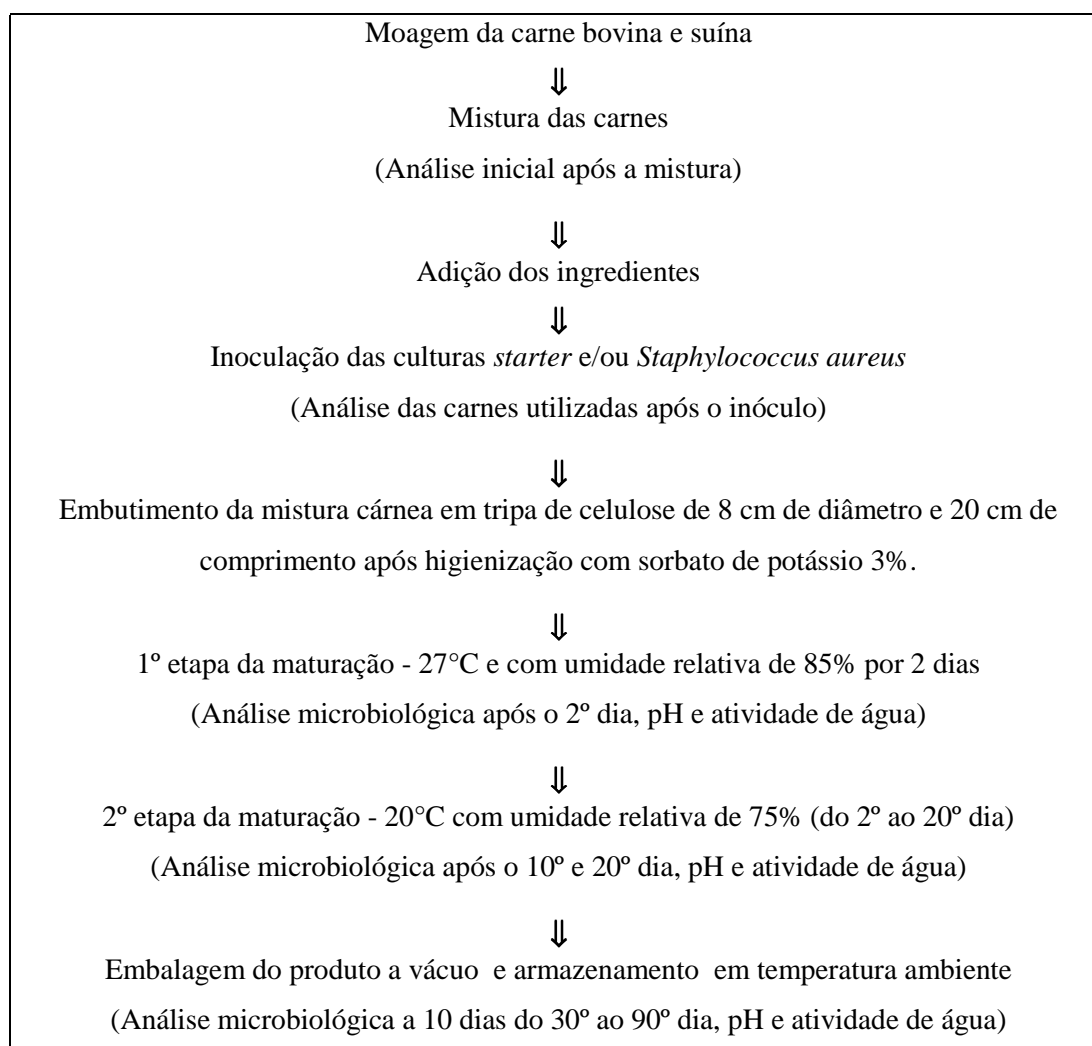


Figura 1- Principais etapas envolvidas na fabricação de salame tipo Italiano e esquema de amostragem para a execução das análises microbiológicas e físico-químicas.

A tecnologia empregada na fabricação de salame envolveu as variáveis apresentadas na **tabela 2** e que para efeitos didáticos, também apresentada na **figura 2**:

Tabela 2- Descrição dos 14 tipos de tratamentos empregados para a obtenção de salame tipo Italiano.

Produção	Culturas <i>starter</i>		<i>L. sake 2a</i>	Sal de cura (NO ₃ /NO ₂)	Inóculo <i>S. aureus</i>
	FloraCarn FF-1 e SL (1:1)	FloraCarn FF-1, SL e SPX (1:1:1)			
T1	+	-	-	+	-
T2	-	+	-	+	-
T3	+	-	-	-	-
T4	-	+	-	-	-
T5	-	-	-	+	+
T6	+	-	-	+	+
T7	-	+	-	+	+
T8	-	-	-	-	+
T9	+	-	-	-	+
T10	-	+	-	-	+
T11	-	-	+	+	+
T12	-	-	+	+	-
T13	-	-	+	-	+
T14	-	-	+	-	-

(+) adicionado; (-) não adicionado.

1- adição de cura padrão e de culturas *starter*

- Adição de culturas *starter* **FloraCarn FF-1** (*Staphylococcus xylosum* + *Pediococcus pentosaceus*) e **SL** (*Staphylococcus carnosus* + *Pediococcus pentosaceus*) - 1:1 (Christian Hansen, Valinhos, SP);
- Adição de culturas *starter* **FloraCarn FF-1, SL e SPX** (*Staphylococcus xylosum* DD34 + *Pediococcus pentosaceus*) - 1:1:1 (Christian Hansen);
- Adição de *Lactobacillus sake 2a* – inóculo de cerca de 4,00 log UFC/g.

2- ausência de cura padrão com adição de culturas *starter*

- Adição de culturas *starter* **FloraCarn FF-1** e **SL** - 1:1 (Christian Hansen);
- Adição de culturas *starter* **FloraCarn FF-1**, **SL** e **SPX** - 1:1:1 (Christian Hansen);
- Adição de *Lactobacillus sake* 2a – inóculo de cerca de 4,00 log UFC/g.

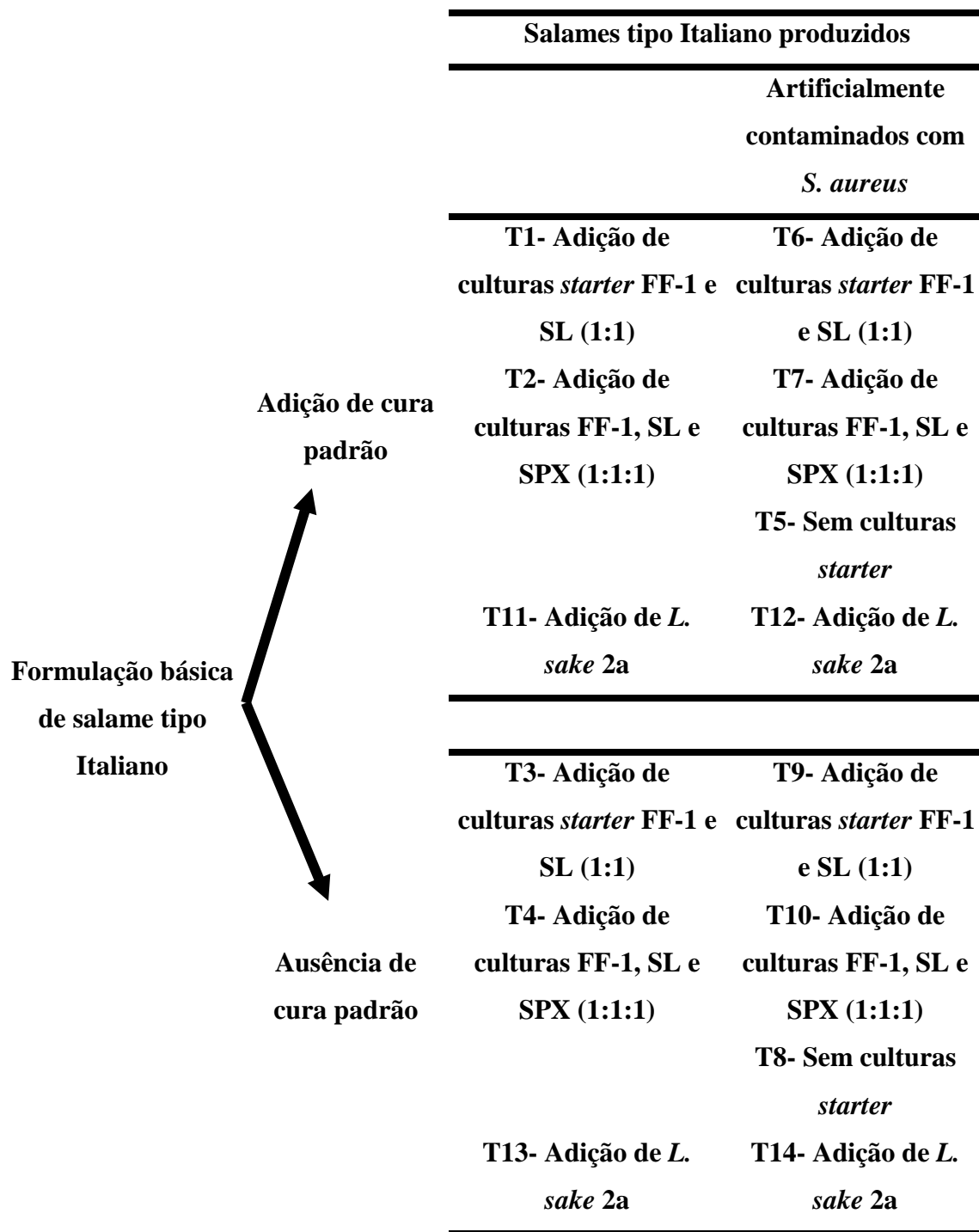


Figura 2- Tratamentos empregados para a obtenção de salame tipo Italiano

No estabelecimento comercial a carne foi desossada e moída primeiramente em discos com orifícios de 14 mm e, em seguida, em discos com orifícios de 8 mm. Posteriormente, as carnes foram transportadas em caixas térmicas para o processamento no laboratório. A seguir, foram levados para uma misturadeira C.A.F. (modelo M 60, Rio Claro, São Paulo) onde foram acrescentados os ingredientes e as culturas, de acordo com a variável de processamento empregada (**tabela 2**). Após a formação de uma massa homogênea, esta foi transferida para a embutideira manual Siemesen (tipo ES8, Brusque, Santa Catarina). Para cada experimento foram preparados aproximadamente 20 Kg. A massa foi embutida em tripas artificiais de 7/35 cm, resultando em peças com 500 gramas, em média. A seguir, procedeu-se o processo de cura em câmara de maturação (Icecorp, modelo RTF 150bj) acoplada de umificador VaporVip 100 (modelo 100, Icecorp, São Paulo), primeiramente a 27°C e umidade relativa de 85% (2 dias) e posteriormente a 20°C e umidade relativa de 75% (do 2º ao 20º dia). A temperatura e a umidade relativa foram acompanhadas através de utilização de um termohigrômetro (MultiTherm), além da própria marcação digital da câmara de maturação. O período de maturação foi considerado concluído quando o pH e/ou a atividade de água atingiram os valores 5,3 e 0,84, respectivamente. Finalizado o período de maturação, as peças de salame foram embaladas a vácuo e armazenadas em temperatura ambiente. As principais etapas envolvidas na fabricação de salame tipo Italiano encontram-se dispostas na **figura 1**.

3- Preparação e inoculação da cultura de *Lactobacillus sake* 2a

Para a realização das produções T11, T12, T13 e T14, foi empregada a cepa de *L. sake* 2a, isolada de lingüiça frescal e caracterizada como produtora de bacteriocina (MARTINIS & FRANCO, 1998). A cepa foi cultivada em caldo tripticase-soja (TSB, Oxoid Inc., Ogdensburg, NY, EUA) a 30°C por 18-24 horas. O caldo foi submetido à centrifugação e as células foram lavadas 3 vezes com solução salina (NaCl 0,85%), sendo em cada uma das lavagens centrifugadas durante 20 minutos a 3000 RPM a 15°C (Centrífuga refrigerada SPIN VI, Incibrás, SP, Brasil). A massa celular foi ressuspenida em 10 mL de solução salina e adicionada à mistura cárnea, de forma a obter cerca de 4,00 log UFC/g de produto. Paralelamente,

diluições decimais dessa suspensão foram feitas em água peptonada 0,1%, semeadas em ágar Man Rogosa Sharp (ágar MRS, Oxoid), com incubação a 30°C por 48 horas, para a confirmação da população inoculada.

4- Preparação e inoculação da cultura de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Para a realização das produções T5, T6, T7, T8, T9, T10, T12, e T14, foi feita contaminação artificial com *Staphylococcus aureus*, empregando-se a cepa *S. aureus* ATCC 25923. O microrganismo foi cultivado em caldo tripticase-soja (TSB, Oxoid) a 35°-37°C por 18-24 horas. O caldo foi submetido à centrifugação e as células foram lavadas 3 vezes com solução salina (NaCl 0,85%), sendo em cada uma das lavagens centrifugadas durante 20 minutos a 3000 RPM durante 20 minutos a 15°C (Centrífuga refrigerada SPIN VI, Incibrás, SP, Brasil). A massa celular foi ressuspendida em 10 mL de solução salina e adicionada à mistura cárnea, de forma a obter uma população média de 5,0 a 6,0 log UFC/g de produto. Paralelamente, diluições decimais dessa suspensão foram feitas em água peptonada 0,1%, semeadas em ágar Baird Parker (BP) e incubadas a 35-37°C por 48 horas para a confirmação da população média inoculada.

5- Amostragem

As amostragens para as análises microbiológicas e físico-químicas foram feitas (em duplicata) no início do processamento, ou seja, após mistura das carnes bovina, suína e toucinho, no 2º, 10 e 20º dia, período correspondente à maturação. Posteriormente, por 90 dias, período correspondente à vida-de-prateleira, também foram feitas análises a cada 10 dias (**figura 1**), constituindo assim uma amostra composta.

A cada amostragem os salames foram pesados, calculando-se uma fração de 10% de seu peso total obtida de diferentes porções do salame. A mistura foi triturada em um recipiente previamente higienizado, utilizando-se um multiprocessador Arno Triton (Arno, São Paulo, Brasil).

6- Análises microbiológicas

Da amostra composta, obtida conforme descrito no item 5, 25g foram retiradas em condições de assepsia e homogeneizados com 225 mL de água peptonada 0,1% (diluição 10^{-1}), utilizando-se um “Bag Mixer” (Interscience, St. Nom, França). Diluições decimais subseqüentes foram preparadas, utilizando o mesmo diluente.

Alíquotas de 0,1 mL de cada diluição foram transferidas para placas contendo base para ágar Baird Parker adicionada de gema de ovo e telurito de potássio (Oxoid) e incubadas a 35-37 °C por 48 horas, para a contagem de *Staphylococcus aureus* e ágar MRS (Oxoid), e incubadas a 30°C por 48 horas em aerobiose, para a contagem de bactérias lácticas. Alíquotas de 1,0 mL de cada diluição foram transferidas para placas Petrifilm para *Escherichia coli* (Petrifilm™ EC, 3M Microbiology St. Paul, MN, EUA), e incubadas a 35-37 °C por 24 horas, para a contagem de *E. coli* e coliformes, de acordo com as instruções do fabricante.

Paralelamente, alíquotas de 1,0 mL foram transferidas para placas Petrifilm para mesófilos aeróbios (Petrifilm™ AC - 3M) e para bolores e leveduras (Petrifilm™ YM - 3M) e incubadas a 35-37 °C por 48 horas e a 20 °C por 5 dias, respectivamente, para a contagem desses microrganismos.

A contagem de *Staphylococcus aureus* foi confirmada após a realização de testes bioquímicos. Para esse fim, um total de 3 a 5 colônias características (negras e com halo) e não características em ágar Baird Parker, foram selecionadas e submetidas ao teste da produção de catalase e confirmadas pelo teste Staphy-Test, o qual se baseia na capacidade diferencial que *S. aureus* possui de aglutinar hemácias de carneiro previamente sensibilizadas com hemolisina e fibrinogênio (Probac do Brasil, São Paulo).

Deve ser salientado que a contagem de *Staphylococcus* spp. foi efetuada excluindo-se as colônias confirmadas como sendo *S. aureus*. Sendo assim, a população de *Staphylococcus* spp. incluiu tanto *Staphylococcus* spp. autóctones da carne quanto aqueles integrantes das culturas *starter* adicionadas às produções.

7- Análises físico-químicas

7.1- Determinação de pH

Alíquotas de 20g de amostra composta, obtida conforme descrito no item 5, foram diluídas e homogeneizadas em 100 mL de água destilada fervida. Em seguida, foram realizadas determinações de pH, em duplicata, em potenciômetro digital portátil pH-Tester (Hanna Instruments, Woonsacket, Rhoad Island) a 25 °C (INSTITUTO ADOLF LUTZ, 1985).

7.2- Determinação do valor da atividade de água

Foram feitas determinações de atividade de água a 25°C, em triplicata, a partir da amostra composta obtida conforme descrito no item 5, em aparelho Novasina aw Center (Novasina AG, Zürich, Suíça).

8- Análise dos resultados

A partir das contagens de *S. aureus* e dos outros microrganismos estudados obtidas nos diferentes pontos de amostragem, foram construídas curvas de sobrevivência. A comparação dos resultados obtidos para os diferentes tratamentos empregados na produção de salame foi feita através de estatística descritiva e análise de variância, com utilização do teste de Tukey, considerando-se um nível de significância $p < 0,05$ (GOMES, 1973, BANZATTO & KRONKA, 1995), utilizando-se o programa estatístico “Statgraphic” - versão 5.1 (Managistic, Chicago, EUA).

Foram calculados os valores D e comparados com os resultados obtidos através de análise estatística. O valor D ou tempo de redução decimal corresponde ao inverso negativo do coeficiente angular da equação da reta que descreve a destruição de microrganismos em função do tempo (dias), calculada utilizando-se do método da regressão linear, através dos mínimos quadrados, aplicado à região linear da curva de sobrevivência.

IV – RESULTADOS

No presente trabalho, foram utilizadas culturas *starter* liofilizadas FloraCarn FF-1 (*Staphylococcus xylosum* + *Pediococcus pentosaceus*), FloraCarn SPX (*Staphylococcus xylosum* DD34 + *Pediococcus pentosaceus*) e FloraCarn SL (*Staphylococcus carnosus* + *Pediococcus pentosaceus*). A linhagem *Staphylococcus xylosum* da cultura SPX é a DD-34, enquanto que a da FF-1 é uma modificação genética desta linhagem (CAVENAGHI & OLIVEIRA, 1999). CAVENAGHI (1999) verificou em seu trabalho que culturas FloraCarn SPX apresentam menor velocidade de formação de ácido láctico, quando comparadas às demais culturas *starter* utilizadas, seja na mesma proporção ou em quantidade superior às demais culturas presentes. Já a cultura FloraCarn FF-1 tem maior velocidade de acidificação quando comparada às demais, reduzindo o valor de pH mais rapidamente, seja quando isolado ou em misturas. A autora concluiu que o emprego das culturas FloraCarn FF-1 e SL associadas e das culturas FloraCarn FF-1, SL e SPX associadas resultam em um salame tipo Italiano com características físico-químicas e sensoriais semelhantes e melhores que as obtidas no salame preparado com o uso individual de cada uma das culturas.

Para efeito de comparação e discussão dos resultados obtidos no presente trabalho, os mesmos foram agrupados em blocos. As variáveis de processamento do salame tipo Italiano descritas na **Tabela 2**, foram repetidas duas vezes. Assim sendo, para a apresentação gráfica e a discussão dos resultados, foram considerados as médias das populações obtidas nas duas repetições. Assim sendo, para a apresentação gráfica e a discussão dos resultados, foram consideradas as médias das populações obtidas nas duas repetições. Para o tratamento estatístico de cada variável, todos os valores relativos às repetições das diversas formulações estudadas foram consideradas individualmente. Para efeitos práticos, cada variável de processamento foi denominada “T”. Assim, por exemplo, a variável d do tratamento 1 (salame tipo Italiano preparado com culturas *starter* FloraCarn FF-1 e SL, adição de sais de cura e não inoculado com o patógeno- *Staphylococcus aureus*) foi denominado T1.

1 – Características de salames tipo Italiano preparados com 2 e 3 tipos de culturas *starter*, com (T1, T2) e sem de sais de cura (T3, T4), não inoculados com *Staphylococcus aureus*.

As tabelas 3, 4 e 5 mostram as médias das populações microbianas encontradas nos salames T1, T2, T3 e T4, enquanto que a **tabela 6** mostra os valores de pH e de atividade de água obtidos para essas produções durante o período de maturação e vida-de-prateleira.

Tabela 3 – Média, desvio padrão e valores D das populações de coliformes totais, *Escherichia coli* e bolores e leveduras obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas *starter* (T1, T2, T3 e T4) e com a adição (T1, T2) ou não (T3, T4) de sais de cura.

Etapa	Tempo (dias)	Média das populações (log UFC/g)				Média ¹	DP
		CoT1	CoT2	CoT3	CoT4		
MP	0	3,06	4,30	5,04	4,70	4,28	0,86
	2	2,04	3,23	2,74	3,51	2,88	0,64
MT	10	1,91	2,23	1,46	1,01	1,65	0,53
	Média ²	1,98^a	2,73^a	2,10^a	2,26^a		
		EcT1	EcT2	EcT3	EcT4	Média ¹	DP
MP	0	1,93	1,83	2,85	2,00	2,15	0,47
MT	2	1,00	1,38	1,50	1,29	1,29	0,21
	Média ²	1,00^a	1,38^{ab}	1,50^b	1,29^{ab}		
		BLT1	BLT2	BLT3	BLT4	Média ¹	DP
MP	0	4,06	5,00	5,34	5,18	4,90	0,57
	2	3,30	4,45	4,69	4,85	4,32	0,70
MT	10	3,03	4,05	4,14	4,61	3,96	0,67
	20	2,40	3,44	3,35	4,28	3,37	0,77
	Média ²	2,91^a	3,97^b	4,06^{bc}	4,58^c		
VP	30	1,58	2,94	2,30	2,90	2,43	0,64
	40	nd	2,49	1,37	1,33	1,73	0,66
	Média ³	1,58^{ab}	2,72^c	1,84^b	1,11^a		
	Valor D ⁴ (dias)	16	19	12	11		

MP- matéria-prima; MT- maturação; VP- vida-de-prateleira; Co- coliformes totais; Ec- *Escherichia coli*; BL- bolores e leveduras; DP- desvio padrão; nd- não detectado. 1- média entre os tratamentos estudados (T1, T2, T3 e T4); 2- médias das múltiplas análises correspondentes ao período de maturação de cada tratamento (dias 2 e 10); 3- médias das múltiplas análises correspondentes à vida-de-prateleira de cada tratamento; 4- Cálculo do valor D correspondente aos resultados obtidos durante a maturação e vida-de-prateleira. Letras coincidentes indicam valores estatisticamente iguais (p>0,05).

Durante o período de maturação, ocorreu uma redução gradativa da população de bolores e leveduras, coliformes e *Escherichia coli*, verificando-se que ao 20º dia a diminuição na população de bolores e leveduras foi de aproximadamente 1 ciclo log, de 2 ciclos log de coliformes totais (já após o 10º dia) e de 1 ciclo log de *Escherichia coli* (já ao 2º dia).

Na **figura 3** estão apresentadas as contagens médias de coliformes totais, *Escherichia coli*, bolores e leveduras ao longo do período de maturação e vida-de-prateleira dos salames tipo Italiano T1, T2, T3 e T4. Observa-se na **tabela 3** que, durante o período de estudo, os bolores e leveduras foram eliminados mais rapidamente nos salames sem sais de cura. Para os salames com sais de cura os valores D calculados foram de 16 e 19 dias (T1 e T2), para os salames sem de sais de cura (T3 e T4) os valores foram de 12 e 11 dias, respectivamente.

A população média obtida de coliformes totais na matéria-prima foi $4,28 \pm 0,86$ log UFC/g, conforme apresentado na **tabela 3** e **figura 3a**. Ao 2º dia do período de maturação esta população reduziu-se em cerca de 1,50 ciclos log, sendo detectadas contagens médias de $2,88 \pm 0,64$ log UFC/g. Nas quatro produções estudadas as populações de coliformes totais foram verificadas até o 10º dia, as quais equivaleram a $1,65 \pm 0,53$ log UFC/g.

Os perfis das curvas apresentadas na **figura 3a** mostram que houve uma redução gradativa da população de coliformes do 2º ao 10º dia para as produções T1, T2, T3 e T4. No entanto, esta redução não foi estatisticamente significativa ($p > 0,05$).

Conforme apresentado na **tabela 3**, verificou-se uma contagem de *Escherichia coli* até ao 2º dia do período de maturação. A maior contagem de *E. coli* foi detectada na matéria-prima empregada para a produção do salame T3 (2,85 log UFC/g), enquanto que para T1, T2 e T4, a população presente na matéria-prima foi de aproximadamente a 2,00 log UFC/g. Ao 2º dia, a contagem de *E. coli* reduziu para $1,29 \pm 0,21$ log UFC/g nas quatro produções. Ao 10º dia, a população de *E. coli* deixou de ser detectada nos salames avaliados (**figura 3b**).

A variação da população de *E. coli* foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$), as produções T1 e T3 diferenciaram-se entre si, sendo relacionada à maior contaminação da matéria-prima destinada à produção inicial para T3.

A população média de bolores e leveduras na matéria-prima nos salames T1, T2, T3 e T4 foi de $4,90 \pm 0,57$ log UFC/g, sendo verificado maior contagem desses microrganismos na produção T3 ($5,34$ log UFC/g). Ao 2º dia de maturação ocorreu uma redução média de aproximadamente 0,5 ciclo log, verificando-se uma população de $4,32 \pm 0,70$ log UFC/g entre as produções T1, T2, T3 e T4, tendo sido observado maior população na produção T4 ($4,85$ log UFC/g). Ao término do período de maturação, a redução da população de bolores e leveduras foi de aproximadamente 1,5 ciclo log em relação ao 2º dia, tendo-se sido verificado ao 20º dia uma população média de $3,37 \pm 0,77$ log UFC/g para as produções T1, T2, T3 e T4.

Na **figura 3c**, foram apresentadas as reduções das populações de bolores e leveduras durante a maturação, sendo estatisticamente significativas ($p < 0,05$) entre as produções T1 e T4, bem como entre as produções T2 e as produções T1 e T4.

Conforme apresentado nas **figuras 3a e 3b**, não foi detectado coliformes totais e *Escherichia coli* durante a vida-de-prateleira dos salames tipo Italiano T1, T2, T3 e T4, tendo sido relacionado às reduções dos valores de pH a atividade de água ocorridas durante o processo de maturação (**figura 6a**). Para bolores e leveduras foram detectados uma contagem média de $2,43 \pm 0,64$ e $1,73 \pm 0,66$ ao 30º e 40º dia, respectivamente.

Na **tabela 4 e figuras 4a e 4b** foram apresentadas as variações das contagens de bactérias lácticas e de microrganismos mesófilos obtidas nas produções T1, T2, T3 e T4 durante os períodos estudados nos salames tipo Italiano. Deve ser salientado que as populações desses 2 grupos de microrganismos estão relacionadas à adição de culturas *starter* à massa cárnea.

A contagem de bactérias lácticas na matéria-prima foi de $6,14 \pm 0,67$ log UFC/g. Com a adição de culturas *starter*, houve um aumento médio de aproximadamente 2 ciclos log em relação à contagem inicial após o 2º dia ($8,32 \pm 0,24$ log UFC/g). Aos 10º e 20º dias observou-se uma redução gradativa da população de bactérias lácticas. Ao término do período de maturação, tanto nas produções adicionadas quanto nas privadas de sais de cura, a população média de bactérias lácticas foi de $7,73 \pm 0,29$ log UFC/g.

Tabela 4 - Média, desvio padrão e valores D das populações de microrganismos mesófilos e bactérias lácticas durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas *starter* (T1, T2, T3 e T4) e com a adição (T1 e T2) ou não de sais de cura (T3 e T4).

Etapa	Tempo (dias)	Média das populações (log UFC/g)					
		MsT1	MsT2	MsT3	MsT4	Média ¹	DP
MP	0	7,94	6,75	7,28	7,16	7,28	0,49
	2	8,37	8,41	8,39	8,58	8,44	0,10
MT	10	8,09	7,96	8,12	8,06	8,06	0,07
	20	7,78	7,64	7,58	7,72	7,68	0,09
Média ²		8,08^a	8,00^a	8,03^a	8,12^a		
VP	30	7,53	7,47	7,01	7,15	7,29	0,25
	40	7,3	6,93	6,44	6,79	6,87	0,36
	50	6,83	6,81	6,01	6,27	6,48	0,41
	60	6,58	6,23	5,6	5,89	6,08	0,42
	70	5,98	6,04	5,1	5,6	5,68	0,43
	80	5,85	5,32	4,69	5,26	5,28	0,47
	90	5,54	4,36	4,16	4,91	4,74	0,62
Média ³		6,52^b	6,16^{ab}	5,57^a	5,98^{ab}		
Valor D ⁴ (dias)		30	27	21	24		
Etapa	Tempo (dias)	Média das populações (log UFC/g)					
		LabT1	LabT2	LabT3	LabT4	Média ¹	DP
MP	0	6,88	6,3	5,26	6,1	6,14	0,67
	2	8,13	8,12	8,62	8,4	8,32	0,24
MT	10	7,96	7,83	7,79	8,55	8,03	0,35
	20	7,84	7,47	7,51	8,09	7,73	0,29
Média ²		7,98^{ab}	7,81^a	7,97^{ab}	8,35^b		
VP	30	7,58	6,28	6,28	7,43	6,89	0,71
	40	7,49	6,09	6,15	7,1	6,71	0,70
	50	6,89	5,92	6,03	6,76	6,40	0,50
	60	6,51	4,86	5,74	6,57	5,92	0,80
	70	5,84	4,55	5,69	6,74	5,71	0,90
	80	5,85	4,34	5,22	6,26	5,42	0,84
	90	6,01	3,38	5,04	4,89	4,83	1,09
Média ³		6,60^c	5,06^a	5,73^b	6,53^c		
Valor D ⁴ (dias)		31	19	28	27		

MP- matéria-prima; MT- maturação; VP- vida-de-prateleira; Ms- microrganismo mesófilos; Lab- bactérias lácticas; DP- desvio padrão. 1- média entre os tratamentos estudados (T1, T2, T3 e T4).; 2- médias das múltiplas análises correspondentes ao período de maturação de cada tratamento (dias 2, 10 e 20); 3- médias das múltiplas análises correspondentes à vida-de-prateleira de cada tratamento (30° ao 90° dia); 4- Cálculo do valor D correspondente aos resultados obtidos durante a maturação e vida-de-prateleira. Letras coincidentes indicam valores estatisticamente iguais (p>0,05).

A variação da população entre as produções analisadas foi significativa ($p < 0,05$) tendo a produção T2 diferenciado-se da T4 (ambas adicionadas de 3 tipos de culturas *starter*) quanto à variação da população de bactérias lácticas durante o período de maturação.

Durante a vida-de-prateleira, as produções dos salames tipo Italiano T1, T2, T3 e T4 apresentaram uma redução significativa ($p < 0,05$) em relação à população de bactérias lácticas (**figura 4a**). A contagem de bactérias lácticas mostrou-se significativamente mais acentuada para os salames T2 (com 3 tipos de culturas *starter* e com sais de cura), quando comparada às demais.

Observa-se na **tabela 4** que as produções sem sais de cura foram as que tiveram menores valores quanto à redução da contagem de microrganismos mesófilos. Assim, nas produções T3 e T4 os valores D foram a cada 21 e 24 dias, enquanto que, nas produções T1 e T2 os valores obtidos foram de 30 e 27 dias, respectivamente. Para a população de bactérias lácticas observou que as produções T1 e T2 foram as que mais lentamente e mais rapidamente reduziram o número de bactérias lácticas, ou seja, a cada 31 e 19 dias, respectivamente. Para as produções T3 e T4 a eliminação de bactérias lácticas foi a cada 28 e 27 dias, respectivamente.

Os resultados apresentados na **tabela 4** estiveram próximos aos observados por outros autores, que descreveram uma predominância de bactérias lácticas em embutidos fermentados secos, com a adição ou não de culturas *starter*. SAMELIS *et al.* (1998), observaram que após o 4º dia de fermentação a população de bactérias lácticas apresentava níveis de 8,00 log UFC/g, mantendo-se constantes durante todo o período de fermentação e maturação.

De acordo com a **figura 4b**, após a adição de culturas *starter* a população de microrganismos mesófilos, que na matéria-prima era de $7,28 \pm 0,49$ log UFC/g, aumentou para $8,44 \pm 0,10$ log UFC/g ao 2º dia. Ao 20º dia observou-se uma redução de cerca de 1 ciclo log tendo sido obtida uma população média de $7,68 \pm 0,09$ log UFC/g. Analisando estes dados, variação de microrganismos mesófilos não foram considerados estatisticamente significativos ($p > 0,05$) entre as produções T1, T2, T3 e T4 dos salames tipo Italiano durante sua maturação.

Ao contrário do que ocorreu com relação às populações de bactérias lácticas, as curvas referentes às populações de microrganismos mesófilos ao longo da vida-de-

prateleira dos salames revelaram perfis semelhantes para as formulações T1, T2, T3 e T4 (**figura 4b**). Nas quatro produções de salames estudados revelou-se tendências de decréscimo microbiano contínuo nas populações de microrganismos mesófilos, o qual iniciou-se durante a maturação. A população média desse grupo de microrganismos ao 90º dia foi de $4,74 \pm 0,62$ log UFC/g. Estas variações foram significativas ($p < 0,05$), observando-se uma diferença entre a produção T1 e a T4 (**tabela 4**).

A **tabela 5** mostra a população média de *Staphylococcus* spp. tendo uma contagem de $5,54 \pm 0,53$ log UFC/g presente na matéria-prima nas quatro produções, também ilustrada na **figura 5a**. Com a adição de culturas *starter*, as quais também continham *Staphylococcus* spp. não patogênicos, houve um aumento médio entre 2 a 3 ciclos log, observados ao 2º dia de maturação. Assim, as populações médias de *Staphylococcus* spp. obtidas para as produções T1, T2, T3 e T4 foram de $8,02 \pm 0,25$ log UFC/g ao 2º dia de maturação. Ao 20º dia, observou-se uma redução de cerca de 0,5 a 1 ciclo log, independentemente da cultura empregada e da adição ou não de sais de cura.

A contagem de *S. aureus* presente na matéria-prima empregada foi de $2,23 \pm 0,21$ log UFC/g, conforme apresentado na **figura 5b** e **tabela 5**. Com exceção da produção T2 (população de cerca de 2,00 log UFC/g), contagens de *Staphylococcus aureus* não foram detectadas após o 2º dia de maturação nas produções T1, T3 e T4.

Na **figura 5a**, observa-se que, apesar do aumento da contagem microbiana ao 2º dia de maturação (relacionado ao inóculo de culturas *starter*), e redução a partir deste período, a população de *Staphylococcus* spp. não foi estatisticamente significativa ($p > 0,05$) entre as diferentes produções avaliadas nesta etapa.

Ao 30º dia (vida-de-prateleira), a contagem média de *Staphylococcus* spp. para as produções adicionadas de 2 e 3 tipos de culturas foi de $6,76 \pm 0,15$ log UFC/g para as produções T1, T2, T3 e T4. Independentemente de terem sido adicionados 2 ou 3 tipos de culturas *starter* nas produções ao início do processamento, durante a vida-de-prateleira ocorreu uma equiparação das populações de microrganismos por grama de produto elaborado. Ao final da vida-de-prateleira, populações microbianas médias de 4,55 log UFC/g para T1 e T2 e de 3,12 log UFC/g para T3 e T4 foram observadas. Para os tratamentos privados de sais de cura (T3 e T4) a redução da

população de *Staphylococcus* spp. foi de cerca de 4,00 log UFC/g, enquanto que, nas produções com sal de cura (T1 e T2) houve uma redução de aproximadamente 2 ciclos log.

Tabela 5 - Média, desvio padrão e valores D das populações de *Staphylococcus* spp e *Staphylococcus aureus* obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas *starter* (T1, T2, T3 e T4) e com a adição (T1 e T2) ou não de sais de cura (T3 e T4).

Etapa	Tempo (dias)	Média das populações (log UFC/g)					
		StT1	StT2	StT3	StT4	Média ¹	DP
MP	0	5,21	5,01	6,17	5,77	5,54	0,53
	2	8,11	7,96	8,29	7,71	8,02	0,25
MT	10	7,51	7,71	7,38	7,5	7,53	0,14
	20	6,81	7,28	7,12	6,99	7,05	0,20
Média²		7,48^a	7,65^a	7,60^a	7,40^a		
	30	6,66	6,81	6,63	6,95	6,76	0,15
	40	6,08	6,33	6,37	6,54	6,33	0,19
	50	5,58	5,6	5,62	6,01	5,70	0,21
VP	60	5,2	4,94	4,95	5,60	5,17	0,31
	70	4,98	4,78	4,59	4,90	4,81	0,17
	80	4,84	4,51	4,06	4,24	4,41	0,34
	90	4,6	4,5	3,2	3,03	3,83	0,83
Média³		5,42^a	5,35^a	5,06^a	5,32^a		
Valor D⁴ (dias)		26	21	19	23		
Etapa	Tempo (dias)	Média das populações (log UFC/g)					
		SaT1	SaT2	SaT3	SaT4	Média ¹	DP
MP	0	2,13	2,32	2,48	2,00	2,23	0,21
MT	2	nd	2,00	nd	nd	nc	nc

MP- matéria-prima; MT- maturação; VP- vida-de-prateleira; St- *Staphylococcus* spp.; Sa- *Staphylococcus aureus*; DP- desvio padrão; nd- não detectado, nc- não calculado. 1- média entre os tratamentos estudados (T1, T2, T3 e T4); 2- médias das múltiplas análises correspondentes ao período de maturação de cada tratamento (dias 2, 10 e 20); 3- médias das múltiplas análises correspondentes à vida-de-prateleira de cada tratamento (30º ao 90º dia); 4- Cálculo do valor D correspondente aos resultados obtidos durante a maturação e vida-de-prateleira. Letras coincidentes indicam valores estatisticamente iguais (p>0,05).

Observa-se na **tabela 5** que as produções T3 e T2 foram as que reduziram mais rapidamente a população de *Staphylococcus* spp. durante o período de estudo, ou seja, a redução de 1 ciclo log foi a cada 19 e 21 dias. Para as produções T1 e T4 esta redução foi a cada 26 e 23 dias, respectivamente.

A variação da população de *Staphylococcus* spp. para as diferentes produções durante a vida-de-prateleira não foi considerada estatisticamente distinta ($p>0,05$) durante a maturação e vida-de-prateleira, apesar de ter sido observada uma redução microbiana maior para T3 e T4 (ambas sem sais de cura), particularmente a partir do 70º dia.

Nas **figuras 6a** e **6b** estão apresentados os valores médios de pH e de atividade de água durante o período de maturação e vida-de-prateleira dos salames T1, T2, T3 e T4. A atividade de água dos referidos tratamentos alcançou os valores esperados e típicos de salame tipo Italiano ao 20º dia, bem como o pH, tendo sido, em média, de 0,84 e de 4,73, respectivamente. Conforme pode ser constatado na **tabela 6**, o valor médio de pH foi de $6,41 \pm 0,09$ no início do processamento, reduzindo para $4,73 \pm 0,17$ ao 20º dia de maturação. Já a atividade de água, que no início do processo foi de 0,96, reduziu para um valor médio de $0,84 \pm 0,01$ ao 20º dia.

As variações de pH e de atividade de água entre as quatro produções durante o período de maturação não foram estatisticamente significativas ($p>0,05$), porém foram de extrema importância para o controle de determinados microrganismos, bem como a obtenção das características organolépticas próprias do salame tipo Italiano. O valor médio do pH observado ao 30º dia foi de $4,67 \pm 0,22$ para as produções T1, T2, T3 e T4. Valores maiores de pH foram verificados para a produção T2 (produzido com sais de cura). Através da análise estatística verificou-se uma diferença significativa ($p<0,05$) entre as formulações. Entretanto, a **figura 6a** mostra que, apesar desta diferença ter sido notável entre o 50º e o 70º dia, os valores de pH final das referidas formulações apresentaram-se semelhantes.

A atividade de água, que também é considerada uma importante barreira para o controle microbiológico em produtos cárneos, atingiu valores mínimos 40 dias após o processamento (0,82) e pouco variou no período subsequente de vida-de-prateleira (**figura 6b**). A análise estatística detectou uma diferença significativa entre as formulações com sal de cura (T1 e T2) e aquelas privadas de sais de cura (T3 e T4) ($p<0,05$), apesar desta diferença ter sido apenas de cerca de 0,01 (**tabela 6**, **figura 6b**).

Tabela 6 – Valores médios de pH e atividade de água e desvio padrão obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas *starter* (T1, T2, T3 e T4) e com a adição (T1 e T2) ou não de sais de cura (T3 e T4).

Etapa	Tempo (dias)	Valores médios obtidos					
		pHT1	PHT2	pHT3	pHT4	Média ¹	DP
MP	0	6,53	6,42	6,33	6,34	6,41	0,09
	2	5,37	5,09	5,30	4,95	5,18	0,19
MT	10	4,93	4,95	4,54	4,78	4,80	0,19
	20	4,79	4,93	4,52	4,69	4,73	0,17
Média ²		5,03^a	4,99^a	4,78^a	4,80^a		
VP	30	4,66	4,98	4,48	4,55	4,67	0,22
	40	4,55	4,99	4,93	4,70	4,79	0,20
	50	4,64	5,00	4,72	4,95	4,83	0,17
	60	4,84	5,24	4,78	5,23	5,02	0,25
	70	5,10	5,23	5,00	5,16	5,12	0,10
	80	5,33	5,22	5,19	5,07	5,20	0,11
	90	5,39	5,25	4,96	5,14	5,19	0,18
Média ³		4,93^a	5,13^b	4,86^a	4,97^{ab}		
		AaT1	AaT2	AaT3	AaT4	Média¹	DP
MT	0	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96	0,00
	2	0,94	0,94	0,94	0,93	0,94	0,00
MT	10	0,91	0,91	0,92	0,91	0,91	0,00
	20	0,83	0,83	0,85	0,85	0,84	0,01
Média ²		0,89^a	0,89^a	0,90^a	0,90^a		
VP	30	0,83	0,82	0,83	0,83	0,83	0,00
	40	0,81	0,82	0,82	0,82	0,82	0,00
	50	0,81	0,81	0,82	0,82	0,82	0,01
	60	0,81	0,81	0,82	0,82	0,82	0,01
	70	0,81	0,81	0,83	0,82	0,82	0,01
	80	0,81	0,81	0,82	0,82	0,82	0,01
	90	0,81	0,81	0,83	0,82	0,82	0,01
Média ³		0,81^a	0,81^a	0,82^b	0,82^b		

MP- matéria-prima; MT- maturação; VP- vida-de-prateleira; Aa- atividade de água; DP- desvio padrão. 1- média entre os tratamentos estudados (T1, T2, T3 e T4); 2- médias das múltiplas análises correspondentes ao período de maturação de cada tratamento (dias 2, 10 e 20); 3- médias das múltiplas análises correspondentes à vida-de-prateleira de cada tratamento (30º ao 90º dia). Letras coincidentes indicam valores estatisticamente iguais (p>0,05).

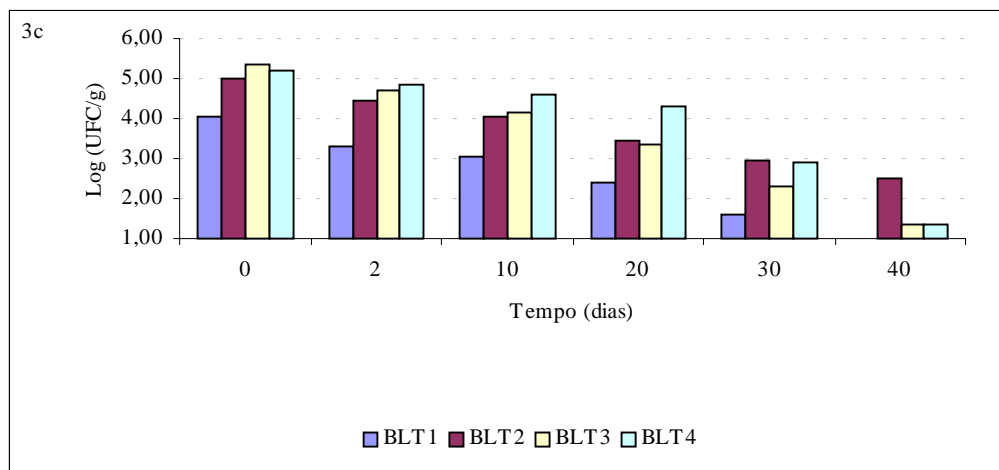
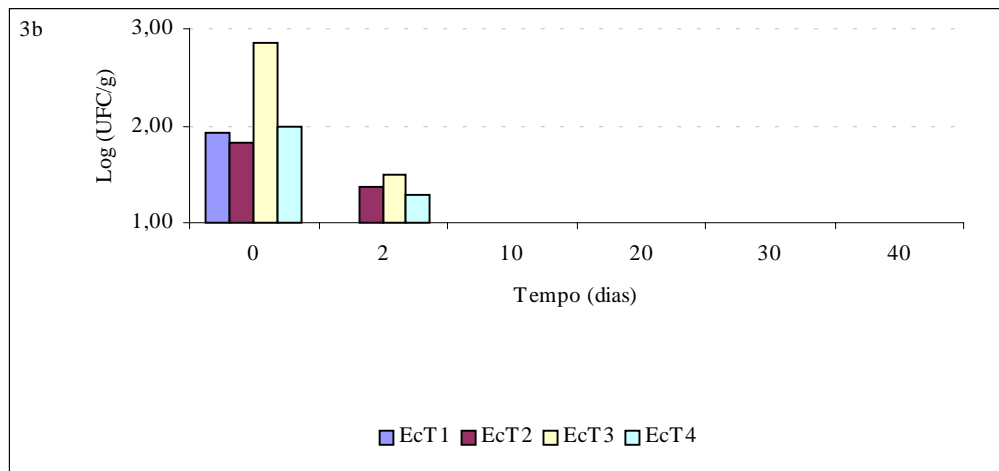
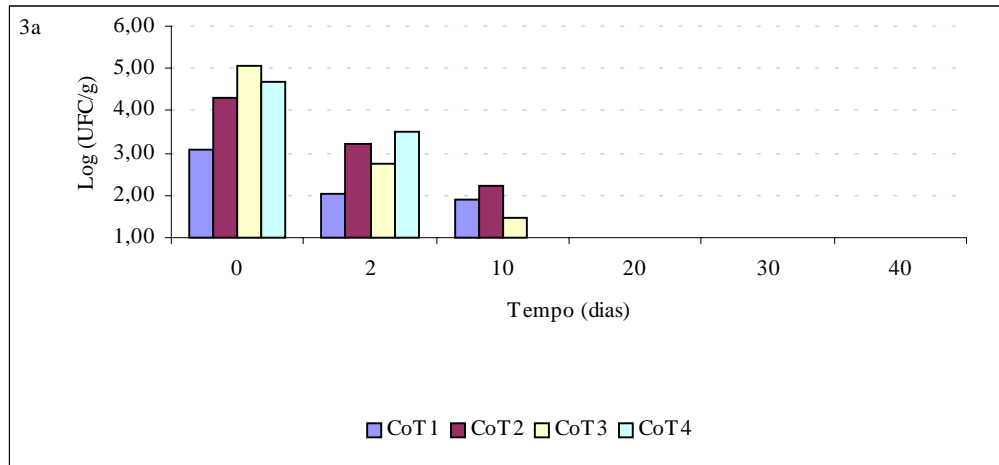


Figura 3 - Populações médias de coliformes, de *Escherichia coli*, de bolores e leveduras em salames tipo Italiano com (T1 e T2) e sem adição de sais de cura (T3 e T4), com 2 (T1 e T3) e 3 tipos (T2 e T4) de culturas *starter* durante a maturação e vida-de-prateleira.

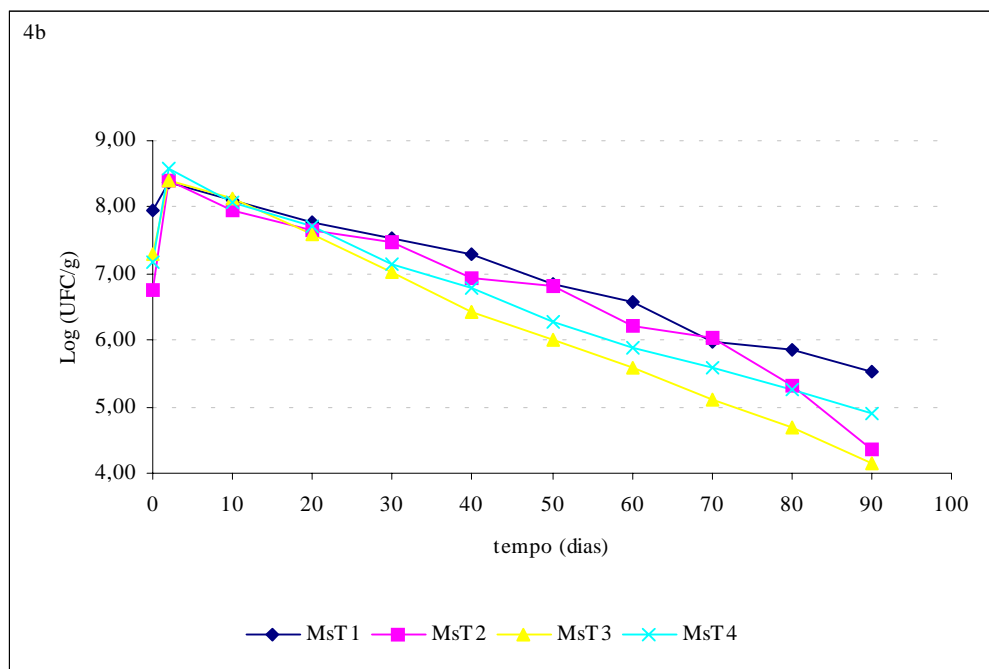
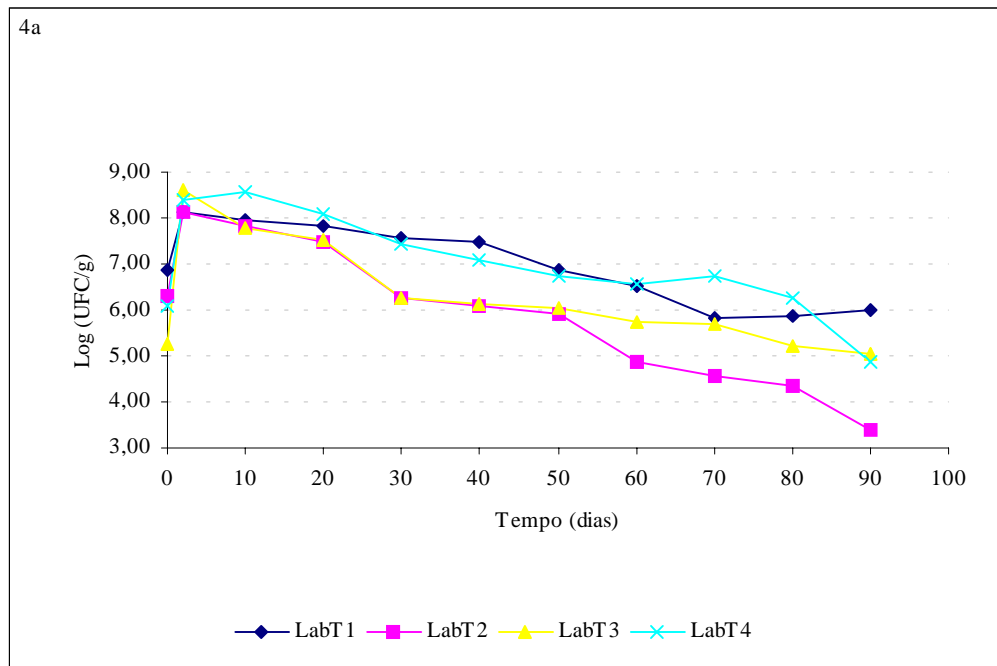


Figura 4 – Populações médias de bactérias lácticas e de microrganismos mesófilos em salames tipo Italiano com (T1 e T2) e sem adição de sais de cura (T3 e T4), com 2 (T1 e T3) e 3 tipos (T2 e T4) de culturas *starter* durante a maturação e vida-de-prateleira.

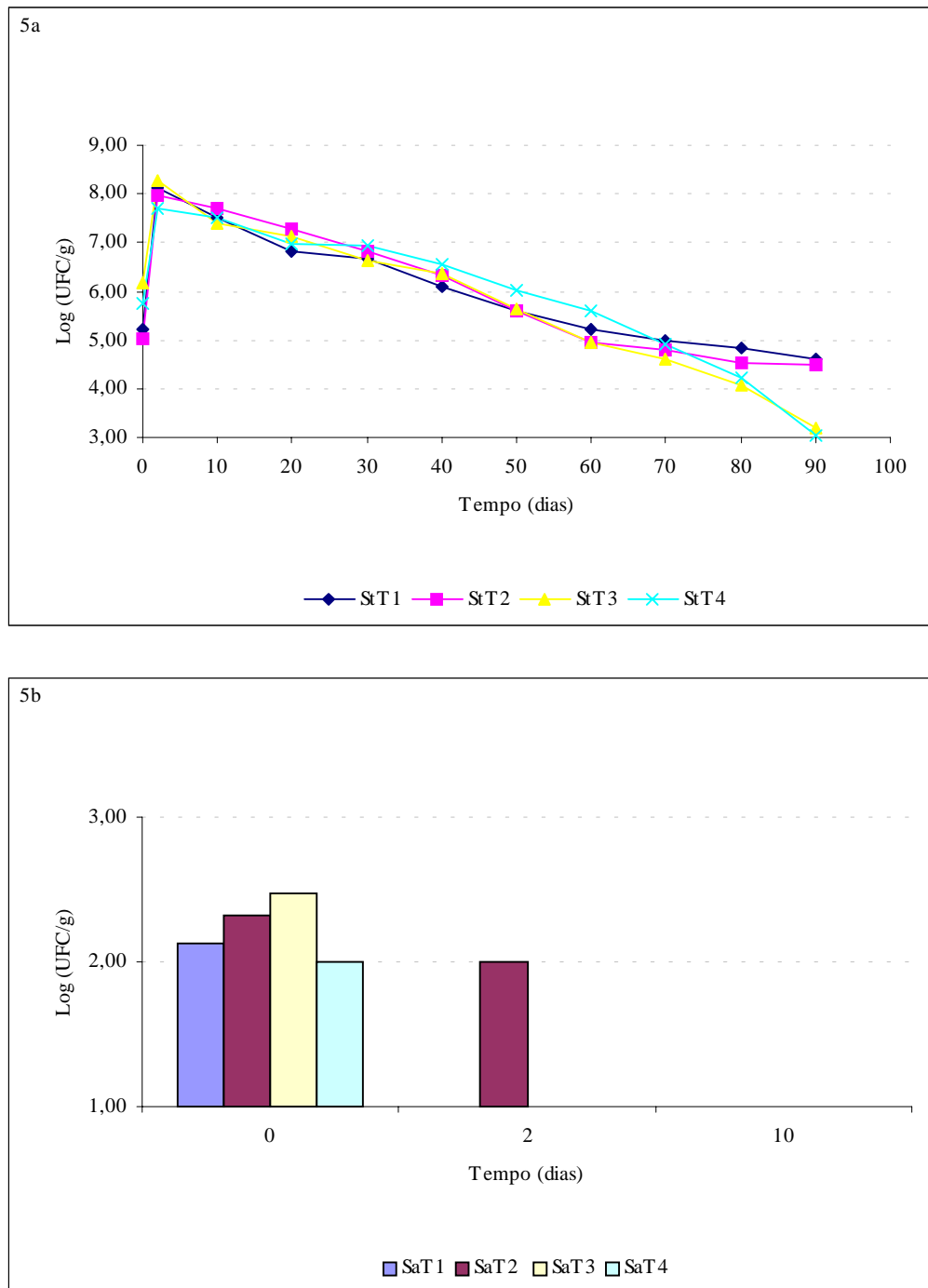


Figura 5- Populações médias de *Staphylococcus spp.* e de *Staphylococcus aureus* em salames tipo Italiano com (T1 e T2) e sem adição de sais de cura (T3 e T4), com 2 (T1 e T3) e 3 tipos (T2 e T4) de culturas *starter* durante a maturação e vida-de-prateleira.

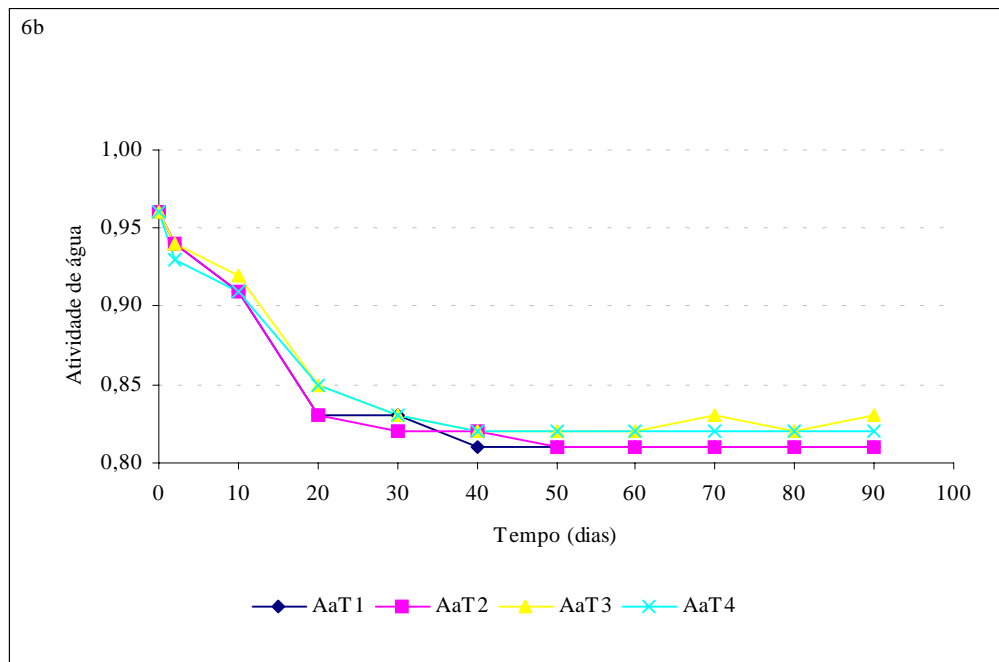
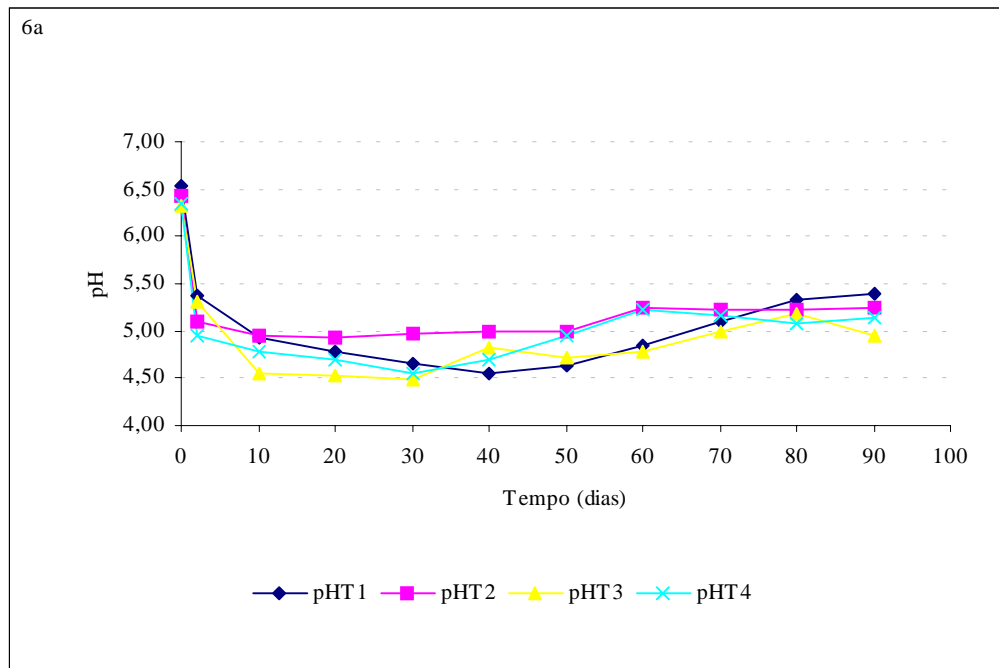


Figura 6 - Valores médios de pH e de atividade de água em salames tipo Italiano com (T1 e T2) e sem adição de sais de cura (T3 e T4), com 2 (T1 e T3) e 3 tipos (T2 e T4) de culturas *starter* durante a maturação e vida-de-prateleira.

2- Características de salames tipo Italiano preparados com (T6, T9) e sem (T5, T8) adição de 2 tipos de culturas *starter*, com (T5, T6) e sem (T8, T9) adição de sais de cura, artificialmente contaminados com *S. aureus* (ATCC 25923).

Durante a produção dos salames tipo Italiano, os salames T5 e T8 foram preparados como controle. Os referidos salames foram privados de culturas *starter* e artificialmente contaminados com uma população média de $5,63 \pm 0,08$ log UFC/g de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Ao lote T5 foram adicionados todos os ingredientes com exceção das culturas *starter*. Já o lote T8, além de não ter sido adicionadas culturas *starter*, também foi privado de sais de cura (**tabela 2**).

Nas **tabelas 7, 8, 9 e 10** foram apresentados os resultados referentes às populações microbianas, pH e atividade de água determinadas para as produções T5, T6, T8 e T9. O objetivo da comparação entre estas produções foi verificar a influência da presença de 2 tipos de culturas *starter* frente às produções privadas das mesmas, bem como evidenciar a permanência do microrganismos *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) durante o período de maturação e vida-de-prateleira.

Conforme mostram a **tabela 7** e a **figura 7**, as produções T5, T6, T8 e T9 apresentaram uma população média de coliformes totais na matéria-prima de $5,03 \pm 0,70$ log UFC/g. A população inicial de *Escherichia coli* foi de $2,54 \pm 0,30$ log UFC/g. Ao 2º dia de maturação, houve uma redução da população desses microrganismos, diminuição esta mais acentuada para as formulações T8 e T9 (ambas privadas de sais cura), no caso das populações de coliformes totais e *E. coli*, respectivamente. Ao final do período de maturação (20º dia) a população de coliformes foi de $1,56 \pm 0,16$ log UFC/g. No caso das produções T8 e T9, somente observou-se a presença de coliformes totais até o 10º dia, tendo sido de 1,21 log UFC/g e de 3,04 log UFC/g, respectivamente.

Observou-se uma população média de *Escherichia coli* ao 2º dia de $2,05$ e $1,88$ log UFC/g para T5 e T6 e de $1,19$ e $1,28$ log UFC/g para T8 e T9, respectivamente, sendo esse microrganismo detectado até o 10º dia com uma população média de $1,01 \pm 0,02$ log UFC/g (**figuras 7a e 7b**), valores estes extremamente próximos do limite de detecção da metodologia de contagem empregada.

Tabela 7 - Média, desvio padrão e valores D das populações de coliformes totais, *Escherichia coli* e bolores e leveduras obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas *starter* (T5, T6, T8 e T9) e com a adição (T5, T6) ou não (T8,T9) de sais de cura.

Etapa	Tempo (dias)	Média das populações (log UFC/g)					
		CoT5	CoT6	CoT8	CoT9	Média ¹	DP
MP	0	5,55	4,95	5,54	4,07	5,03	0,70
	2	4,02	3,46	2,83	3,69	3,50	0,50
MT	10	2,91	2,96	1,21	3,04	2,53	0,88
	20	1,67	1,45	nd	Nd	1,56	0,16
Média ²		2,87^{ab}	2,62^{ab}	2,02^a	3,36^b		
		EcT5	EcT6	EcT8	EcT9	Média ¹	DP
MP	0	2,32	2,27	2,90	2,67	2,54	0,30
	2	2,05	1,88	1,19	1,28	1,60	0,43
MT	10	1,00	1,04	1,00	1,00	1,01	0,02
	20	1,00	1,04	1,00	1,00	1,01	0,02
Média ²		1,52^a	1,46^a	1,10^a	1,14^a		
		BLT5	BLT6	BLT8	BLT9	Média ¹	DP
MP	0	4,30	4,47	4,46	4,55	4,45	0,10
	2	4,27	3,14	4,18	4,33	3,98	0,56
MT	10	2,98	2,72	3,56	3,57	3,21	0,43
	20	2,63	2,68	1,23	2,42	2,24	0,68
Média ²		3,29^a	2,85^a	2,99^a	3,44^a		
VP	30	1,11	1,33	1,16	nd	1,20	0,12
Média ³		1,11^a	1,33^b	1,16^a	nd		
Valor D ⁴ (dias)		10	15	15	09		

MP- matéria-prima; MT- maturação; VP- vida-de-prateleira; Co- coliformes totais; Ec- *Escherichia coli*; BL- bolores e leveduras; DP- desvio padrão; nd- não detectado. 1- média entre os tratamentos estudados (T5, T6, T8 e T9); 2- médias das múltiplas análises correspondentes ao período de maturação de cada tratamento (dias 2, 10 e 20); 3- médias das múltiplas análises correspondentes à vida-de-prateleira de cada tratamento (30° dia); 4- Cálculo do valor D correspondente aos resultados obtidos durante a maturação e vida-de-prateleira. Letras coincidentes indicam valores estatisticamente iguais (p>0,05).

Não foram observadas diferenças significativas (p>0,05) entre as diferentes formulações estudadas nesta etapa quanto às populações de *E. coli*. Com relação às populações de coliformes totais, a formulação T8 revelou-se estatisticamente diferente (p<0,05) apenas em relação à T9 (**tabela 7**).

Verificou-se nas produções T5, T6, T8 e T9 a presença de bolores e leveduras na matéria-prima com uma população média de 4,45 ±0,10 log UFC/g. Ao 20° dia

observou-se uma redução de aproximadamente 2 ciclos log, com exceção da produção T8, que reduziu aproximadamente 3 ciclos log, conforme ilustrado na **figura 7c**. Ao 10º dia foi detectada uma população média de $3,21 \pm 0,43$ log UFC/g, reduzindo ao 20º dia para $2,24 \pm 0,68$ log UFC/g. Ao 30º dia, dia este que já correspondia à vida-de-prateleira, foi detectada uma população média de bolores e leveduras de $1,20 \pm 0,12$ log UFC/g, com exceção da produção T9, para a qual esses microrganismos não foram detectados nesse período. Observa-se na **tabela 7** que, durante o período de estudo, a redução de 1 ciclo log de bolores e leveduras (valor D) para as produções T5, T6, T8 e T9 foi a cada 10, 15, 15 e 09 dias, respectivamente.

De acordo com a **tabela 8** e **figuras 8a** e **8b**, verificou-se que a população inicial de bactérias lácticas e microrganismos mesófilos presentes na matéria-prima para as produções T5, T6, T8 e T9 corresponderam a $5,32 \pm 0,17$ log UFC/g e a $7,17 \pm 0,16$ log UFC/g, respectivamente. Após a adição de culturas *starter*, ocorreu um aumento médio de bactérias lácticas nos referidos salames de aproximadamente 3 ciclos log e de 1 ciclo log para microrganismos mesófilos ao 2º dia de maturação.

Ao término do período de maturação, a população de microrganismos mesófilos e de bactérias lácticas praticamente não variou em comparação ao 2º dia. Ao término do período de maturação, a população microbiana média nas produções foi de $8,59 \pm 0,08$ log UFC/g, para bactérias lácticas, e de $7,73 \pm 0,30$ log UFC/g, para os microrganismos mesófilos.

Não foram detectadas diferenças significativas ($p > 0,05$) com relação à variação das populações de bolores e leveduras, bactérias lácticas e mesófilas para as formulações T5, T6, T8 e T9 durante o período de maturação.

Tabela 8 - Média, desvio padrão e valores D das populações de microrganismo mesófilos e bactérias lácticas obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas *starter* (T5, T6, T8 e T9) e com a adição (T5, T6) ou não (T8,T9) de sais de cura.

Etapa	Tempo (dias)	Média das populações (log UFC/g)					
		MsT5	MsT6	MsT8	MsT9	Média ¹	DP
MP	0	7,21	7,01	7,37	7,07	7,17	0,16
	2	8,43	8,05	8,1	8,26	8,21	0,17
MT	10	7,89	7,93	7,99	8,21	8,01	0,14
	20	7,45	8,14	7,6	7,73	7,73	0,30
Média²		7,92^a	8,04^a	7,80^a	8,07^a		
VP	30	6,73	7,46	7,58	7,44	7,30	0,39
	40	6,67	7,13	6,34	5,96	6,53	0,50
	50	6,31	6,64	5,67	5,66	6,07	0,49
	60	6,14	6,13	5,59	5,73	5,90	0,28
	70	5,47	5,56	5,24	5,68	5,49	0,19
	80	4,88	5,27	5,13	5,38	5,17	0,22
	90	4,37	5,08	4,95	5,20	4,90	0,37
Média³		5,80^a	6,18^a	5,79^a	5,86^a		
Valor D⁴ (dias)		23	27	24	25		
		LabT5	LabT6	LabT8	LabT9	Média ¹	DP
MP	0	5,18	5,56	5,23	5,31	5,32	0,17
	2	8,86	8,96	8,15	7,93	8,48	0,51
MT	10	8,6	8,86	8,69	8,49	8,66	0,16
	20	8,48	8,59	8,66	8,62	8,59	0,08
Média²		8,65^a	8,80^a	8,50^a	8,35^a		
VP	30	8,29	8,52	8,65	7,88	8,34	0,34
	40	7,40	7,80	7,76	7,08	7,51	0,34
	50	7,10	7,40	7,45	7,07	7,26	0,20
	60	7,10	7,12	7,16	6,16	6,89	0,48
	70	6,82	6,48	6,78	6,07	6,54	0,35
	80	6,26	5,55	5,82	5,38	5,75	0,38
	90	5,73	5,41	5,42	4,19	5,19	0,68
Média³		6,96^b	6,89^b	7,00^b	6,15^a		
Valor D⁴ (dias)		29	23	26	23		

MP- matéria-prima; MT- maturação; VP- vida-de-prateleira; Ms- microrganismo mesófilos; Lab- bactérias lácticas; DP- desvio padrão. 1- média entre os tratamentos estudados (T5, T6, T8 e T9); 2- médias das múltiplas análises correspondentes ao período de maturação de cada tratamento (dias 2, 10 e 20); 3- médias das múltiplas análises correspondentes à vida-de-prateleira de cada tratamento (30º ao 90º dia); 4- Cálculo do valor D correspondente aos resultados obtidos durante a maturação e vida-de-prateleira. Letras coincidentes indicam valores estatisticamente iguais (p>0,05).

Observa-se na **tabela 8** que, durante o período de estudo, nas produções sem adição de culturas *starter* (T5 e T8) a redução de 1 ciclo log para microrganismos mesófilos (valor D) foi a cada 23 e 24 dias, tendo sido de 29 e 26 dias para bactérias lácticas, enquanto que nas adicionadas de 2 tipos de culturas *starter* (T9 e T6) o valor D calculado foi a cada 25 e 27 dias para os microrganismos mesófilos e 23 dias para ambas as produções quanto à redução de bactérias lácticas.

A **tabela 9** e a **figura 9** mostram que a população inicial de *Staphylococcus* spp. na matéria-prima foi de $3,44 \pm 0,19$ log UFC/g. Ao 2º dia de maturação esta população variou de 5,54 log UFC/g (T9) a 6,92 log UFC/g (T6), sendo ao 2º dia detectado uma população média de $6,34 \pm 0,63$, reduzindo ao 20º dia para $5,54 \pm 0,53$ log UFC/g.

As diferenças obtidas para *Staphylococcus* spp. foram estatisticamente significativas durante o período de maturação. As produções T5 e T6 (adicionadas de sais de cura) tiveram resultados semelhantes entre si, porém diferenciaram-se das produções T8 e T9 (privadas de sais de cura) as quais também revelaram-se diferentes ($p < 0,05$) entre si (**figura 9a**), resultado este diferente do esperado, levando-se em conta a adição (T6,T9) ou não (T5,T8) de culturas *starter* contendo *Staphylococcus* spp.

Observou-se que nas produções privadas de sais de cura (T8 e T9), a redução de *S. aureus* foi bem mais expressiva do que nas demais já durante o período de maturação, diferença esta detectada como significativa entre a formulação T9 e as formulações T5 e T6 ($p < 0,05$). Ao término do período de maturação, o patógeno inoculado à mistura no início do processamento permaneceu com uma população média de $5,42 \pm 0,83$ log UFC/g ao 2º dia, reduzindo para $4,66 \pm 0,88$ ao 20º dia.

Tabela 9 – Média, desvio padrão e valores D das populações de *Staphylococcus* spp e *Staphylococcus aureus* obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas *starter* (T5, T6, T8 e T9) e com a adição (T5, T6) ou não (T8,T9) de sais de cura.

Etapa	Tempo(dias)	Média das populações (log UFC/g)					
		StT5	StT6	StT8	StT9	Média ¹	DP
MP	0	3,33	3,28	3,45	3,71	3,44	0,19
	2	6,15	6,92	6,74	5,54	6,34	0,63
MT	10	6,09	6,31	5,55	5,34	5,82	0,45
	20	5,81	6,1	4,9	5,35	5,54	0,53
Média²		6,02^{bc}	6,44^c	5,73^{ab}	5,41^a		
VP	30	5,13	5,56	4,51	4,64	4,96	0,48
	40	4,73	5,93	4,26	4,73	4,91	0,71
	50	3,57	5,59	3,65	4,60	4,35	0,95
	60	2,45	5,24	2,56	4,55	3,70	1,41
	70	2,21	4,82	nd	3,99	3,67	1,33
	80	nd	4,64	nd	3,11	3,88	1,08
	90	nd	4,34	nd	2,97	3,66	0,97
Média³		3,61^a	5,16^b	3,81^a	4,08^a		
Valor D⁴ (dias)		14	38	16	34		
		SaT5	SaT6	SaT8	SaT9	Média ¹	DP
MP	0	2,44	2,10	2,15	2,20	2,22	0,15
Inoculo		5,63	5,54	5,73	5,61	5,63	0,08
MT	2	6,52	5,6	4,66	4,91	5,42	0,83
	10	5,7	5,3	4,67	3,8	4,87	0,83
	20	5,3	5,35	4,52	3,48	4,66	0,88
Média²		5,84^c	5,42^c	4,61^b	4,06^a		
VP	30	5,26	4,92	3,43	2,69	4,08	1,22
	40	5,13	4,72	3,18	2,68	3,93	1,18
	50	4,96	4,39	2,87	nd	4,07	1,08
	60	4,88	4,39	2,22	nd	3,83	1,42
	70	4,62	4,21	nd	nd	4,42	0,29
	80	4,63	4,00	nd	nd	4,32	0,45
	90	3,69	3,70	nd	nd	3,70	0,01
Média³		4,74^c	4,33^b	2,92^a	2,68^a		
Valor D⁴ (dias)		69	48	21	16		

MP- matéria-prima; MT- maturação; VP- vida-de-prateleira; St- *Staphylococcus* spp.; Sa- *Staphylococcus aureus*; DP- desvio padrão; nd- não detectado. 1- média entre os tratamentos estudados (T5, T6, T8 e T9); 2- médias das múltiplas análises correspondentes ao período de maturação de cada tratamento (dias 2, 10 e 20); 3- médias das múltiplas análises correspondentes à vida-de-prateleira de cada tratamento (30° ao 90°dia); 4- Cálculo do valor D correspondente aos resultados obtidos durante a maturação e vida-de-prateleira. Letras coincidentes indicam valores estatisticamente iguais (p>0,05).

Conforme mencionado anteriormente, os salames T6 e T9 foram processados com a adição das culturas *starter* contendo bactérias do gênero *Staphylococcus* spp. (FF-1 e SL). Tanto os salames T6 e T9 como os salames T5 e T8 (controle), foram artificialmente contaminados com *Staphylococcus aureus*, em níveis de inoculação de cerca de $5,63 \pm 0,08$ log UFC/g. Deve ser novamente salientado que a quantificação da população de *Staphylococcus* spp. foi efetuada excluindo-se as colônias confirmadas como sendo de *S. aureus*. Sendo assim, a população de *Staphylococcus* spp. incluiu tanto os *Staphylococcus* spp. autóctones da carne quanto aqueles integrantes das culturas *starter*.

Assim, relativo ao período de maturação, observou-se que, para bolores e leveduras, *Escherichia coli*, bactérias lácticas, microrganismos mesófilos bem como a atividade de água, essas diferenças não foram considerados estatisticamente significativas ($p > 0,05$), apesar das **figuras 7c, 7b, 8a, 8b e 10b** evidenciarem uma redução quanto aos valores dos mesmos durante o período de maturação. Entretanto, observou-se que as diferenças obtidas para coliformes totais, *Staphylococcus* spp., *Staphylococcus aureus* e pH entre as formulações T5, T6, T8 e T9 foram estatisticamente significativas ($p < 0,05$), conforme apresentados nas **figuras 7a, 9a, 9b e 10a**.

Durante a vida-de-prateleira, a população de *Staphylococcus* spp. (**figura 9a**), microrganismos adicionados às produções T6 e T9, revelaram uma população média ao 30° dia de $4,96 \pm 0,48$ log UFC/g. Para as produções T5 e T8 foram obtidas populações de *Staphylococcus* spp. até o 70° e 60° dia (2,21 e 2,56 log UFC/g, em média). Para as demais produções, ao 90° dia verificou-se uma população média de *Staphylococcus* spp. de $3,66 \pm 0,97$ log UFC/g.

Para *Staphylococcus* spp. ao longo do período correspondente à vida-de-prateleira, somente a produção T6 (adicionada de sais de cura e 2 tipos de culturas *starter*) foi estatisticamente diferente das demais devido à alta população microbiana a partir do 40° dia até o 90° dia (em média 4,34 log UFC/g ao 90° dia). Nota-se que quanto às produções T5, T8 (sem adição de sais de cura) e T9 (sem de sais de cura e com adição de 2 tipos de culturas *starter*), apesar de terem sido obtidas populações até o 70°, 60° e 90° dia e do perfil da curva das produções T9 ter se revelado distinto

das demais (**figura 9**), a média da redução microbiana não foi considerada estatisticamente diferente ($p>0,05$).

Apesar do pH característico que normalmente reduz a população de *Staphylococcus aureus*, ou seja, em torno de 5,3, verificou-se que na produção T9 o patógeno inoculado (*Staphylococcus aureus*) foi detectado até o 40º dia, a uma população média de 2,68 log UFC/g. Para a produção T8, observou-se a presença do patógeno até o 60º dia, reduzindo-se para 2,22 log UFC/g nesse período de amostragem. Para as produções T5 e T6 o patógeno inoculado esteve presente durante toda a vida-de-prateleira, com uma população média ao 30º dia de 5,26 (T5) e de 4,92 (T6) UFC/g, reduzindo apenas cerca de 1,50 ciclos log até o final da vida-de-prateleira. Ao 90º dia, detectou-se uma população média de $3,70 \pm 0,01$ log UFC/g.

As diferenças relatadas acima, visíveis na **figura 9**, foram significativas ($p<0,05$). Assim, as produções privadas de sais de cura (T8 e T9) não se diferenciaram entre si e sim das produções T5 e T6, as quais também se revelaram distintas quanto ao comportamento de *S. aureus* ($p<0,05$). Esta homogeneidade das produções T8 e T9 foi evidenciada pela redução, ou mesmo eliminação, do patógeno antes do término do suposto período de armazenamento. Desta forma, pode-se concluir que as produções privadas de sais de cura (com ou sem adição de culturas *starter*) tiveram melhores resultados quanto à redução da população de *Staphylococcus aureus* inoculadas à mistura no início do processamento. Porém os quatro tratamentos não foram eficientes por permitirem que o patógeno sobrevivesse durante toda ou parte da vida-de-prateleira, promovendo perigos à saúde do consumidor.

Observa-se na **tabela 9** que, durante o período de estudo, a redução de 1 ciclo log de *Staphylococcus* spp. nas produções controle T5 e T8 (valor D) foi a cada 14 e 16 dias, enquanto que, nas produções adicionadas de 2 tipos de culturas *starter* (T6 e T9) foi a cada 38 e 34 dias, diferença esta relacionada à não adição de culturas *starter* compostas de *S. pentosus* e *S. xylosus* nas formulações controle (T5 e T8). Para *Staphylococcus aureus*, as produções privadas de sais de cura eliminaram mais rapidamente o patógeno inoculado, tendo reduzido nesse caso 1 ciclo log a cada 21 e 16 dias (T8 e T9), comparado a 69 e 48 dias no caso das produções T5 e T6.

Tabela 10 – Valores médio de pH e atividade de água e desvio padrão obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas *starter* (T5, T6, T8 e T9) e com a adição (T5, T6) ou não (T8, T9) de sais de cura.

Etapa	Tempo (dias)	Valores médios obtidos					
		PHT5	pHT6	pHT8	pHT9	Média ¹	DP
MP	0	6,74	6,97	6,76	6,43	6,73	0,22
	2	5,56	5,48	5,39	5,31	5,44	0,11
MP	10	5,24	5,28	4,80	4,46	4,95	0,39
	20	4,93	4,83	4,80	4,49	4,76	0,19
Média ²		5,24^b	5,20^b	5,00^{ab}	4,75^a		
VP	30	5,19	4,93	4,73	4,57	4,86	0,27
	40	5,01	5,03	4,58	4,60	4,81	0,25
	50	5,00	5,13	4,96	4,79	4,97	0,14
	60	5,06	5,21	5,01	4,87	5,04	0,14
	70	5,17	5,35	5,17	5,10	5,20	0,11
	80	5,35	5,47	5,15	4,96	5,23	0,22
	90	5,29	5,55	5,18	4,98	5,25	0,24
Média ³		5,15^b	5,25^b	4,97^a	4,80^a		
		AaT5	AaT6	AaT8	AaT9	Média ¹	DP
MP	0	0,96	0,97	0,96	0,95	0,96	0,01
	2	0,94	0,94	0,94	0,94	0,94	0,00
MT	10	0,91	0,91	0,91	0,9	0,91	0,01
	20	0,84	0,84	0,83	0,81	0,83	0,01
Média ²		0,90^a	0,90^a	0,90^a	0,89^a		
VP	30	0,82	0,83	0,82	0,82	0,82	0,00
	40	0,82	0,82	0,81	0,81	0,82	0,01
	50	0,82	0,82	0,81	0,81	0,82	0,01
	60	0,82	0,82	0,81	0,81	0,82	0,01
	70	0,82	0,82	0,81	0,80	0,81	0,01
	80	0,82	0,82	0,81	0,80	0,81	0,01
	90	0,82	0,82	0,81	0,80	0,81	0,01
Média ³		0,82^b	0,82^b	0,82^b	0,80^a		

MP- matéria-prima; MT- maturação; VP- vida-de-prateleira; Aa- atividade de água; DP- desvio padrão. 1- média entre os tratamentos estudados (T5, T6, T8 e T9); 2- médias das múltiplas análises correspondentes ao período de maturação de cada tratamento (dias 2, 10 e 20); 3- médias das múltiplas análises correspondentes à vida-de-prateleira de cada tratamento (30° ao 90°dia). Letras coincidentes indicam valores estatisticamente iguais (p>0,05).

Nas **figuras 10a, 10b e tabela 10** foram apresentadas às variações de pH e de atividade de água das produções T5, T6, T8 e T9. Os valores médios para as

respectivas matérias-primas foram de $6,73 \pm 0,22$ e de $0,96 \pm 0,01$ para o pH e a atividade de água, respectivamente. Ao final do período de maturação (20º dia) os valores de pH foram de $4,76 \pm 0,19$, enquanto que, a atividade de água foi de $0,83 \pm 0,01$, sendo que a redução do pH do 2º ao 10º dia foi mais acentuada para os salames sem sal de cura (T8 e T9). Estatisticamente, a diferença de pH entre as formulações foi significativa ($p < 0,05$) sendo essa redução maior para a produção T9. Observou-se ainda que os valores de pH das produções T5, T6 e T8 foram considerados homogêneos, assim como para as produções T8 e T9 (privadas de sais de cura) ao longo do período de maturação.

A variação de pH foi importante para que o produto alcançasse as características próprias, bem como para garantir a sua segurança, juntamente com a baixa atividade de água, próprios do salame tipo Italiano. A redução da população de *S. aureus* é importante, pois este microrganismo é o que resiste, apesar das características físico-químicas do salame tipo Italiano, podendo no início do processo de maturação atingir elevadas populações, tornando o produto inviável para o consumo. Apesar dos produtos terem alcançado o pH e a atividade de água desejáveis, os mesmos não foram suficientes para que o patógeno inoculado tivesse sido totalmente eliminado, independentemente da adição ou não de sais de cura e de culturas *starter*. Apesar da redução da atividade de água não ter sido significativa o valor obtido é característico do produto, ou seja, $0,83 \pm 0,01$ ao final do período de maturação.

Durante a vida-de-prateleira dos salames T5, T6, T8 e T9, a atividade de água manteve-se constante, conforme apresentado na **figura 10**. Nas produções estudadas o valor médio observado ao 30º dia foi de $0,82 \pm 0,01$, assim permanecendo até o 90º dia. Em relação ao pH, observou-se um aumento, sendo verificado ao 30º dia um valor médio entre as produções de $4,86 \pm 0,27$ observando-se que ao 90º dia este valor foi de $5,25 \pm 0,24$. Assim sendo, o pH das formulações T9 e T8 (sem sal de cura) foi significativamente inferior ($p < 0,05$) ao pH das formulações T5 e T6 (com sal de cura). Pode-se dizer que para os salames dos quais não foi feita a adição de sais de cura, obteve-se um pH menos propício ao desenvolvimento de patógenos. Esse fato foi evidenciado com relação à população de *S. aureus*.

A formulação T9 (com tipos 2 culturas *starter*, sem a adição de sal de cura), tendo em vista a maior redução de pH durante a maturação e vida-de-prateleira, bem como a atividade de água, ao longo da vida-de-prateleira, foi considerada estatisticamente diferente quanto à presença de *S. aureus* e de bactérias lácticas quando comparada às formulações T5 e T6. A formulação T8 também se revelou desfavorável à inibição de *S. aureus* quando comparado às formulações T5 e T6. Assim, dentre as formulações T5, T6, T8 e T9, a última apresentou-se mais favorável, embora não totalmente adequada à inibição de *S. aureus*. Esse fato é conseqüente da maior redução de pH com a maturação para essa formulação.

LÜCKE (2000) descreveu que o predomínio de bactérias lácticas é favorecido pelas condições anaeróbicas, aliada à presença de sais de cura e açúcares e pelo baixo pH inicial da mistura. Segundo SCHILLINGER & LÜCKE (1989), a formulação e as condições de fermentação promovem a inibição da multiplicação de patógenos em vários tipos de embutidos fermentados. Assim, a redução do pH abaixo de 5,3 possibilitaria a inibição de *Salmonella* spp. e *Staphylococcus aureus* se o produto for fermentado a uma temperatura acima de 18°C.

Analisando os produtos globalmente, observou-se que, independentemente da adição ou não de sais de cura ou mesmo de culturas *starter*, não foi possível caracterizar claras diferenças no presente trabalho em relação às produções-controle, diferentemente dos resultados obtidos por PINTO *et al.* (1998), que sugeriram a possibilidade de inibição de *S. aureus* por mecanismo competitivo, através da utilização de culturas *starter*. Esses autores demonstraram que as culturas iniciadoras de *Staphylococcus*, embora não tenham apresentado a capacidade de produção de compostos ativos contra *S. aureus*, inibiram o desenvolvimento do patógeno, provavelmente por mecanismos competitivos, constituindo-se em um obstáculo adicional capaz de contribuir na garantia de inocuidade do produto.

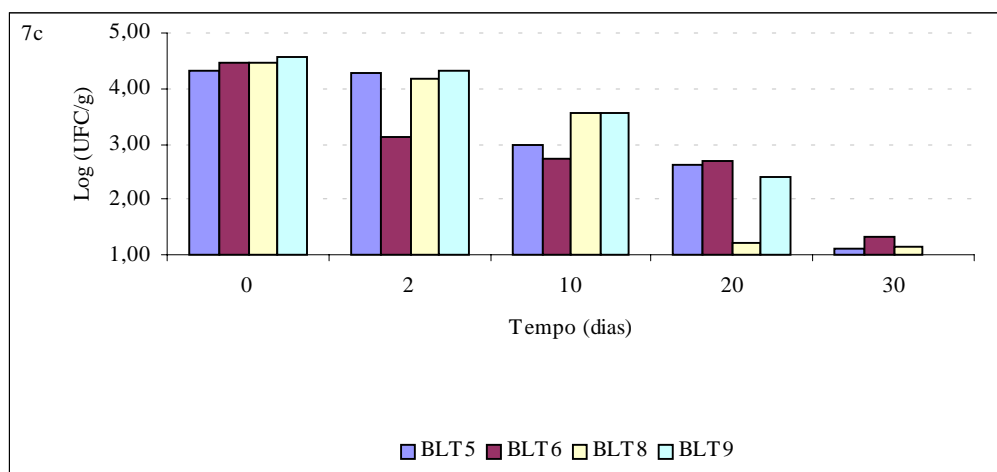
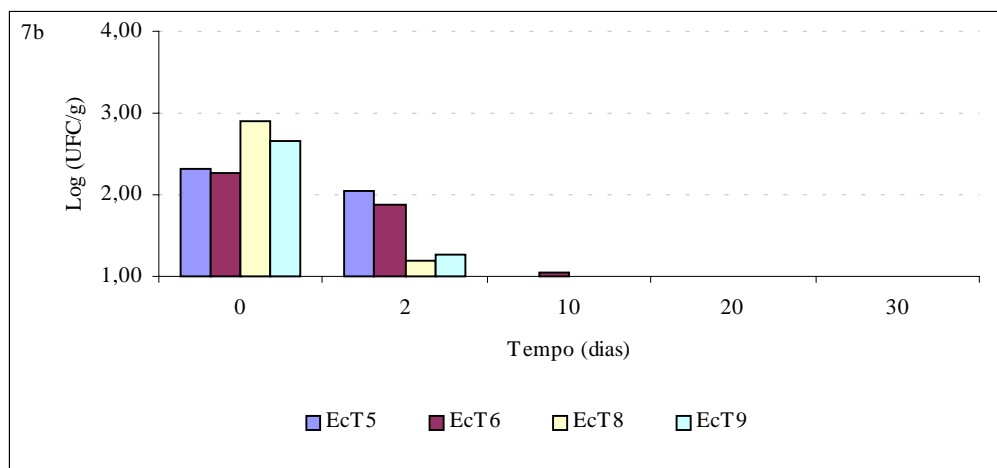
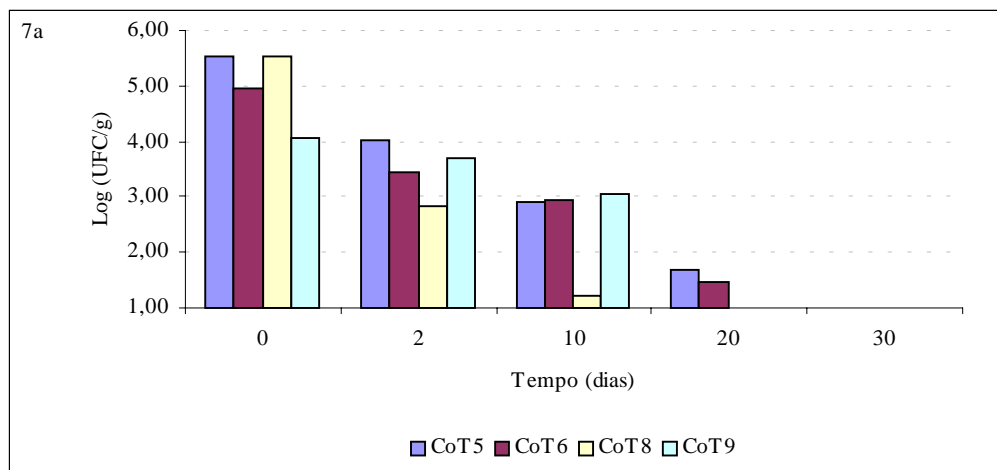


Figura 7– Populações médias de coliformes, de *Escherichia coli* e de bolores e leveduras em salames tipo Italiano com (T5) e sem adição de sais de cura (T8), com adição de 2 tipos culturas *starter* (T6 e T9) durante a maturação e vida-de-prateleira.

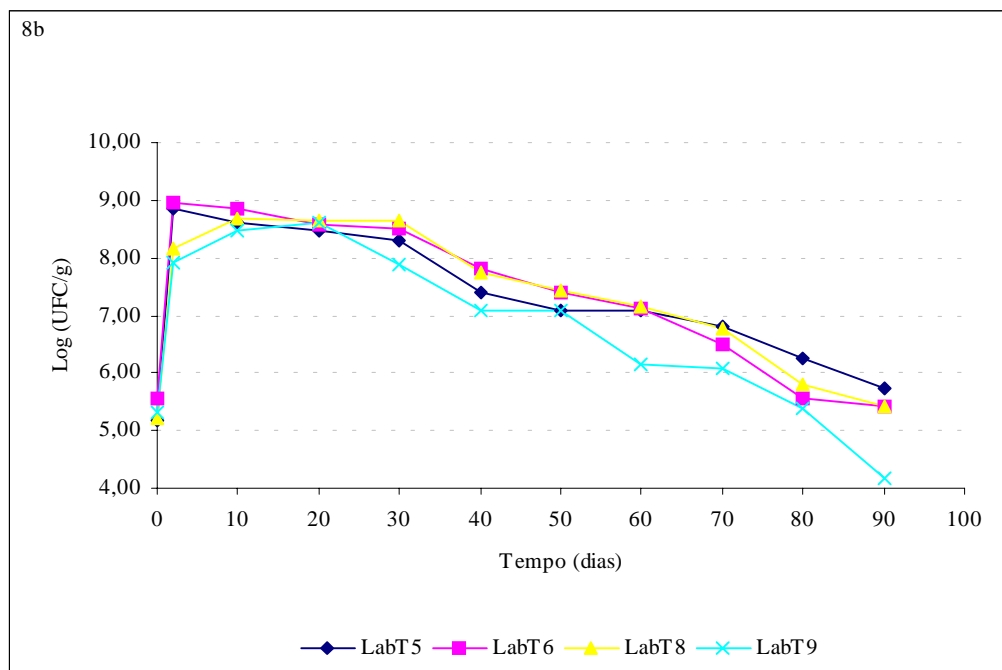
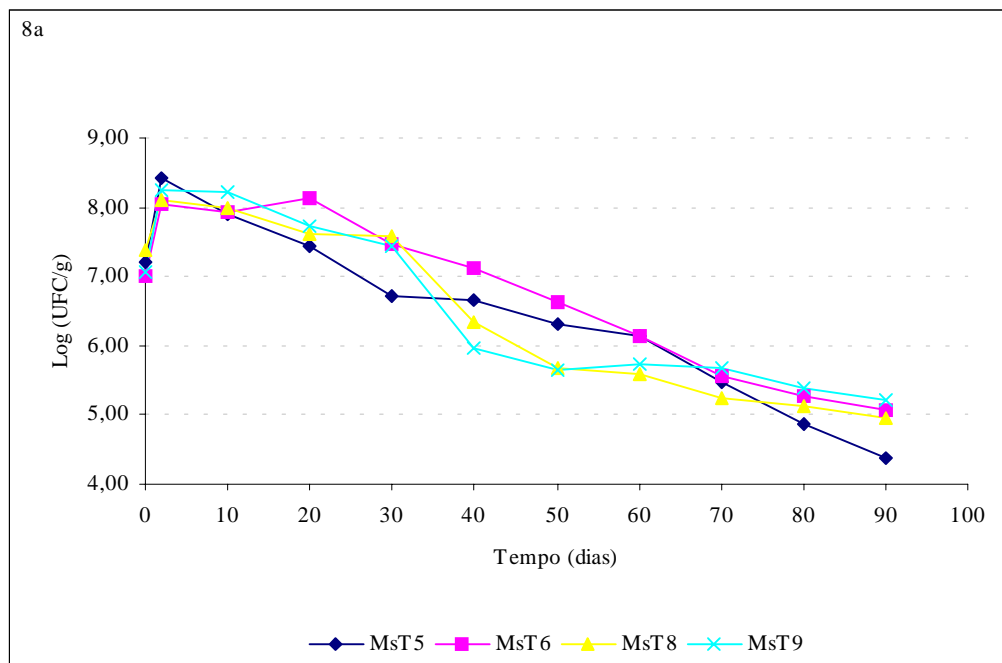


Figura 8 - Populações médias de bactérias lácticas e de microrganismos mesófilos em salames tipo Italiano com (T5) e sem adição de sais de cura (T8), com adição de 2 tipos de culturas *starter* (T6 e T9) durante maturação e vida-de-prateleira.

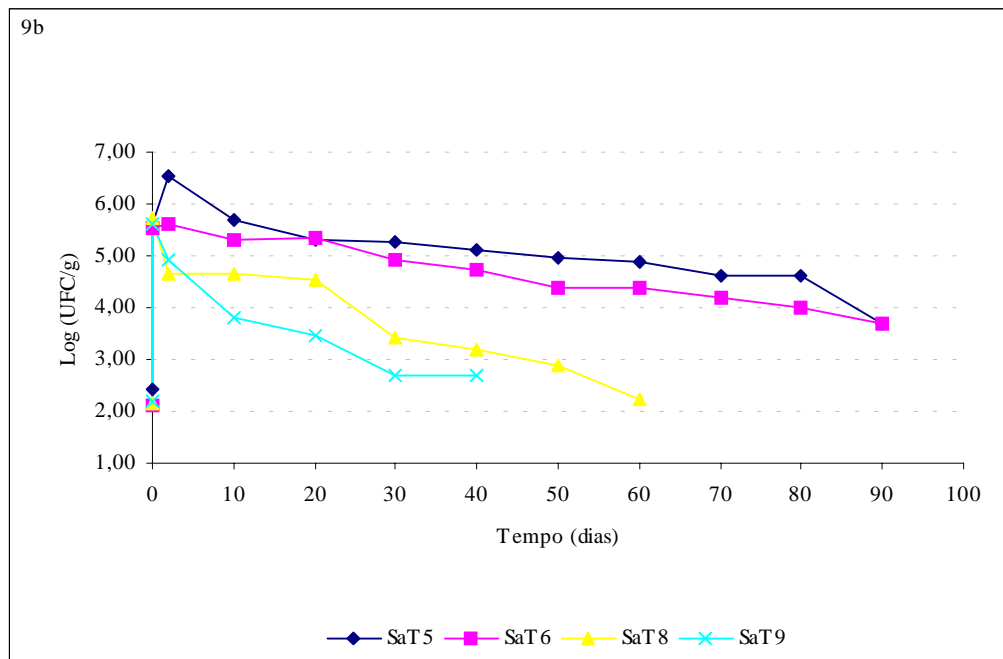
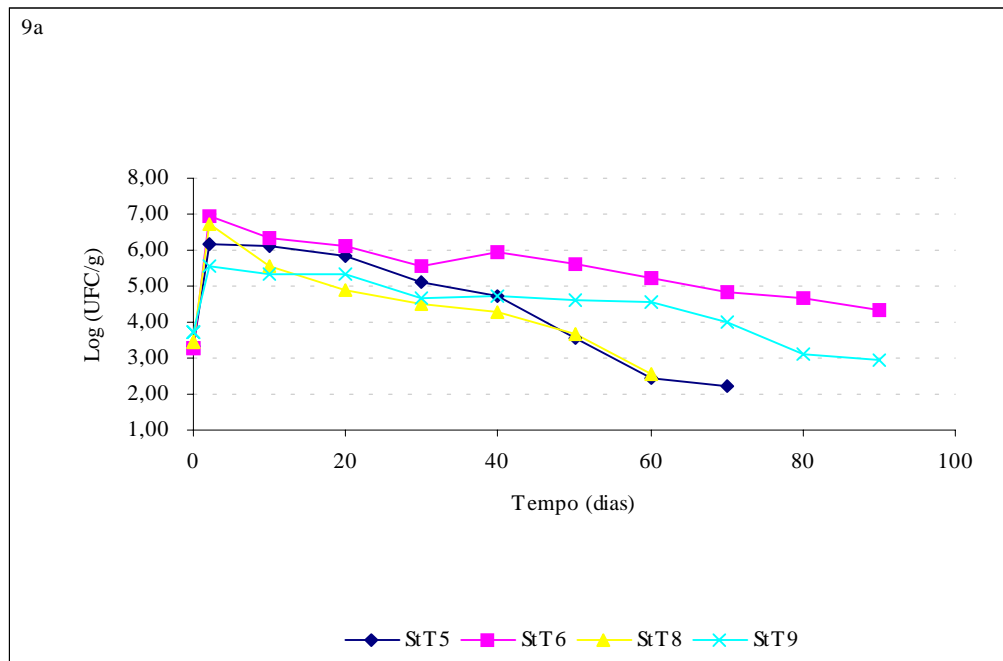


Figura 9 – Populações médias de *Staphylococcus spp.* e de *Staphylococcus aureus** em salames tipo Italiano com (T5) e sem adição de sais de cura (T8), com adição de 2 tipos de culturas *starter* (T6 e T9) durante maturação e vida-de-prateleira.

* inóculo de $5,63 \pm 0,08$ log UFC/g

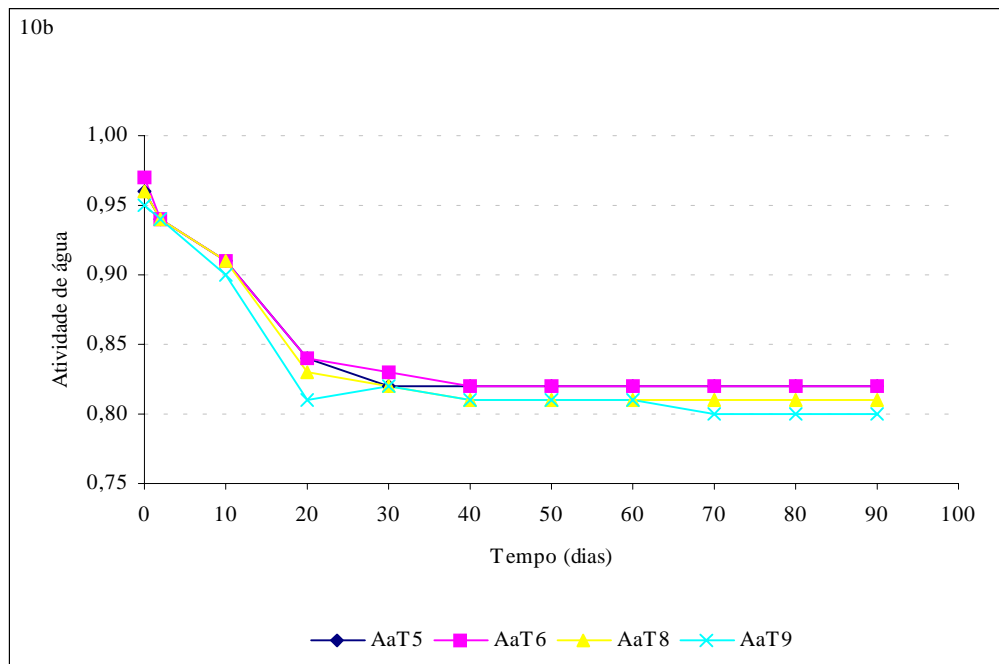
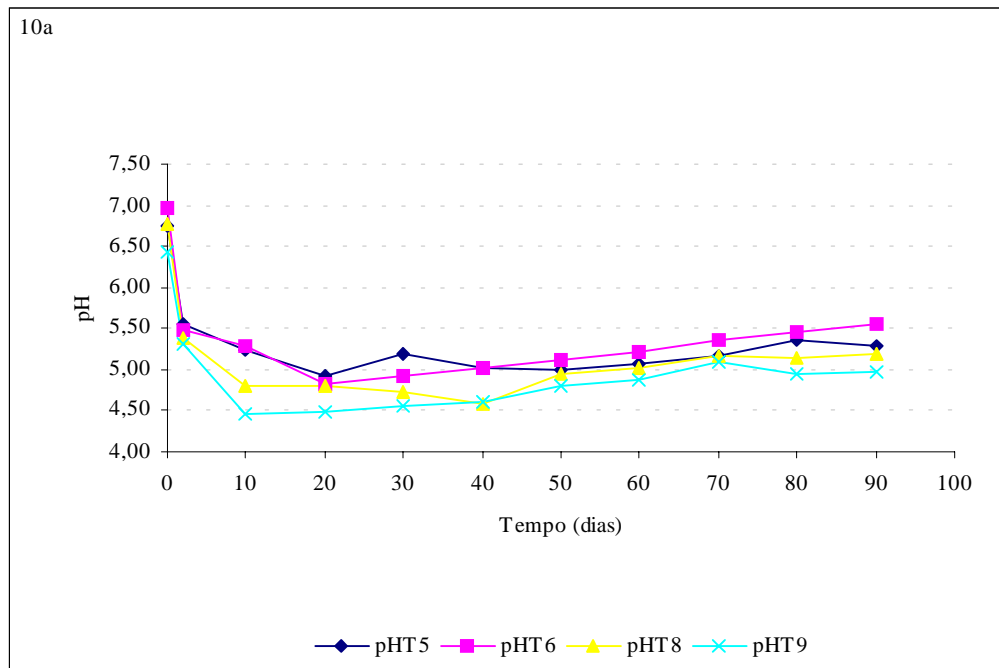


Figura 10- Valores médios de pH e de atividade de água em salames tipo Italiano com (T5) e sem adição de sais de cura (T8), com adição de 2 tipos de culturas *starter* (T6 e T9) durante maturação e vida-de-prateleira.

3 - Características de salames tipo Italiano preparados com (T7, T10) e sem (T5, T8) adição de 3 tipos de culturas *starter*, com (T5, T7) e sem (T8, T10) adição de sais de cura, artificialmente contaminados com *S. aureus* (ATCC 25923).

Os salames T7 e T10 foram preparadas com a adição de 3 tipos de culturas *starter* e artificialmente contaminadas com *Staphylococcus aureus*, sendo o lote T7 adicionado e o T10 sem adição de sais de cura. As produções T5 e T8 foram preparadas como lotes controle, ou seja, nas mesmas condições, porém privadas de culturas *starter*.

Nas **tabelas 11, 12, 13 e 14** foram apresentados os resultados comparativos das populações microbianas, pH e atividade de água entre as produções T5, T7, T8 e T10.

Conforme apresentado nas **figuras 11a e 11b** e na **tabela 11**, nas produções T5, T7, T8 e T10 a população média de coliformes totais na matéria-prima e depois de preparado o produto, ou seja, ao 2º dia de maturação, foi de $4,86 \pm 1,09$ e de $3,49 \pm 0,50$ log UFC/g. *Escherichia coli* nestas produções apresentou uma população de $2,46 \pm 0,42$ na matéria-prima e $1,48 \pm 0,41$ log UFC/g ao 2º dia de maturação. Nas produções T8 e T10 foi verificada a presença de coliformes até o 10º dia, numa população média de 1,21 e de 1,00 log UFC/g, assim como *Escherichia coli* para as produções T5, T7 e T8. A partir deste período deixou de ser detectada a presença desses microrganismos durante o período de maturação, bem como na vida-de-prateleira. Nas produções T5 e T7 observou-se a presença de coliformes ao 20º dia de maturação, a uma população média de $1,64 \pm 0,05$ log UFC/g.

Durante o início da maturação (2º dia), a população média de bolores e leveduras (**figura 11c**) foi de $4,06 \pm 0,54$ log UFC/g, reduzindo-se ao 20º dia em média 2 ciclos log, sendo verificadas populações microbianas médias de $1,85 \pm 0,62$ log UFC/g.

Conforme apresentado nas **figura 11a, 11b e 11c**, ao final do período de maturação e início da vida-de-prateleira não foram detectados coliformes totais e *Escherichia coli* nas produções T5, T7, T8 e T10. Bolores e leveduras foram detectados até o 30º dia numa população média de cerca de $1,09 \pm 0,08$ log UFC/g, para as produções T5, T7 e T8.

Tabela 11 – Média, desvio padrão e valores D das populações de coliformes totais, *Escherichia coli* e bolores e leveduras obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas *starter* (T5, T7, T8 e T10) e com a adição (T5, T7) ou não (T8, T10) de sais de cura.

Etapa	Tempo(dias)	Média das populações (log UFC/g)				Média ¹	DP
		CoT5	CoT7	CoT8	CoT10		
MP	0	5,55	5,10	5,54	3,26	4,86	1,09
	2	4,02	3,69	2,83	3,41	3,49	0,50
MT	10	2,91	2,97	1,21	1,00	2,02	1,06
	20	1,67	1,60	nd	nd	1,64	0,05
Média²		2,72^a	2,75^a	2,02^a	2,20^a		
Etapa	Tempo(dias)	Média das populações (log UFC/g)				Média ¹	DP
		EcT5	EcT7	EcT8	EcT10		
MP	0	2,32	1,93	2,90	2,67	2,46	0,42
	2	2,05	1,49	1,19	1,18	1,48	0,41
MT	10	1,00	1,00	1,00	nd	1,00	0,00
	20	1,00	1,00	1,00	nd	1,00	0,00
Média²		1,53^a	1,25^a	1,10^a	1,18^a		
Etapa	Tempo(dias)	Média das populações (log UFC/g)				Média ¹	DP
		BLT5	BLT7	BLT8	BLT10		
MP	0	4,30	4,47	4,46	4,55	4,45	0,10
	2	4,27	3,28	4,18	4,51	4,06	0,54
MT	10	2,98	2,73	3,56	3,66	3,23	0,45
	20	2,63	1,51	1,23	2,04	1,85	0,62
Média²		3,29^a	2,50^a	2,99^a	3,40^a		
VP	30	1,11	1,00	1,16	nd	1,09	0,08
Média³		1,11^{ab}	1,00^a	1,16^b	nd	1,09	0,08
Valor D⁴ (dias)		10	12	09	07		

MP- matéria-prima; MT- maturação; VP- vida-de-prateleira; Co- coliformes totais; Ec- *Escherichia coli*; BL- bolores e leveduras; DP- desvio padrão; nd- não detectado. 1- média entre os tratamentos estudados (T5, T7, T8 e T10); 2- médias das múltiplas análises correspondentes ao período de maturação de cada tratamento (dias 2, 10 e 20); 3- médias das múltiplas análises correspondentes à vida-de-prateleira de cada tratamento (30º dia); 4- Cálculo do valor D correspondente aos resultados obtidos durante a maturação e vida-de-prateleira. Letras coincidentes indicam valores estatisticamente iguais (p>0,05).

De acordo com a **figura 11c**, observou-se que a redução de bolores e leveduras foi relativamente linear durante a maturação e vida-de-prateleira, não sendo detectado bolores e leveduras na produção T10 após o período de maturação.

Observa-se na **tabela 11** que, durante o período de estudo, a redução de 1 ciclo log de bolores e leveduras para as produções privadas de sais (T8 e T10) de

cura correspondeu em 09 e 07 dias, enquanto que as adicionadas de sais de cura (T5 e T7) o valor D calculado correspondeu a 10 e 12 dias.

Foram detectadas populações de microrganismos mesófilos e bactérias lácticas na matéria-prima de $7,10 \pm 0,23$ e de $5,32 \pm 0,17$ log UFC/g. Observou-se que ao 2º dia uma população média, conseqüente à adição de culturas *starter*, de $8,03 \pm 0,51$ e de $8,67 \pm 0,36$ log UFC/g, respectivamente. Ao término do período de maturação, ou seja, ao 20º dia, a população obtida de microrganismos mesófilos reduziu-se em aproximadamente 0,5 ciclo log, enquanto que bactérias lácticas mantiveram-se com um número constante, conforme apresentados na **tabela 12** e **figura 12**.

Para os microrganismos mesófilos, as produções T5, T8 e T10 não se diferenciaram entre si, sendo somente a produção T7 (adicionada de 3 tipos de culturas *starter*) estatisticamente diferente ($p < 0,05$) durante o período de maturação. Já a população de bactérias lácticas não diferiu significativamente ($p > 0,05$) durante a maturação.

Após o 30º dia, a população média de bactérias lácticas e de microrganismos mesófilos foi de $8,40 \pm 0,17$ log UFC/g e de $7,27 \pm 0,50$ log UFC/g, reduzindo-se durante a vida-de-prateleira em cerca de 3 e 2,5 ciclos log. Posteriormente, iniciou-se uma redução linear desta população, com pequenas variações detectadas entre as diferentes formulações a partir do 80º dia, observando-se ao 90º dia uma população de $5,22 \pm 0,46$ log UFC/g e $4,83 \pm 0,32$ log UFC/g de bactérias lácticas e de microrganismos mesófilos (**figura 12a** e **12b**).

Observa-se na **tabela 12** que a produção T7 foi a que mais tempo levou para a redução de 1 ciclo log (29 dias) de microrganismos mesófilos. Nas produções T5, T10 e T8 houve uma diferença de apenas 1 dia, ou seja, a redução ocorreu a cada 23, 24 e 25 dias. As produções privadas de culturas *starter* (T5 e T8) foram as que mais demoraram para a redução de 1 ciclo log (29 e 26 dias) de bactérias lácticas. Para as adicionadas de 3 tipos de culturas *starter* (T7 e T10) esta redução de bactérias lácticas correspondeu a 23 e 22 dias, respectivamente.

Tabela 12 – Média, desvio padrão e valores D das populações de microrganismos mesófilos e bactérias lácticas obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas *starter* (T5, T7, T8 e T10) e com a adição (T5, T7) ou não (T8, T10) de sais de cura.

Etapa	Tempo (dias)	Média das populações (log UFC/g)				Média ¹	DP
		MsT5	MsT7	MsT8	MsT10		
MP	0	7,21	6,94	7,37	6,89	7,10	0,23
	2	8,43	7,3	8,10	8,29	8,03	0,51
MT	10	7,89	7,64	7,99	8,27	7,95	0,26
	20	7,45	7,22	7,60	7,76	7,51	0,23
Média ²		7,92^b	7,14^a	7,80^b	8,11^b		
VP	30	6,73	6,98	7,58	7,80	7,27	0,50
	40	6,67	6,65	6,34	6,47	6,53	0,16
	50	6,31	6,47	5,67	5,88	6,08	0,37
	60	6,14	5,69	5,59	5,58	5,75	0,26
	70	5,47	5,40	5,24	5,42	5,38	0,10
VP	80	4,88	5,10	5,13	5,18	5,07	0,13
	90	4,37	5,11	4,95	4,88	4,83	0,32
Média ³		5,80^a	5,91^a	5,78^a	5,88^a		
Valor D ⁴ (dias)		23	29	25	24		
		LabT5				Média ¹	DP
		LabT7	LabT8	LabT10			
MP	0	5,18	5,56	5,23	5,31	5,32	0,17
	2	8,86	8,97	8,15	8,71	8,67	0,36
MT	10	8,60	8,52	8,69	8,57	8,60	0,07
	20	8,48	8,54	8,66	8,55	8,56	0,07
Média ²		8,65^a	8,68^a	8,50^a	8,61^a		
VP	30	8,29	8,32	8,65	8,35	8,40	0,17
	40	7,40	7,61	7,76	7,72	7,62	0,16
	50	7,10	7,40	7,45	7,50	7,36	0,18
	60	7,10	7,16	7,16	6,57	7,00	0,29
	70	6,82	6,26	6,78	6,46	6,58	0,27
VP	80	6,26	5,43	5,82	5,45	5,74	0,39
	90	5,73	5,04	5,42	4,67	5,22	0,46
Média ³		6,96^a	6,74^a	7,00^a	6,67^a		
Valor D ⁴ (dias)		29	23	26	22		

MP- matéria-prima; MT- maturação; VP- vida-de-prateleira; Ms- microrganismo mesófilos; Lab- bactérias lácticas; DP- desvio padrão. 1- média entre os tratamentos estudados (T5, T7, T8 e T10); 2- médias das múltiplas análises correspondentes ao período de maturação de cada tratamento (dias 2, 10 e 20); 3- médias das múltiplas análises correspondentes à vida-de-prateleira de cada tratamento (30º ao 90º dia); 4- Cálculo do valor D correspondente aos resultados obtidos durante a maturação e vida-de-prateleira. Letras coincidentes indicam valores estatisticamente iguais (p>0,05).

Nas **figuras 13a e 13b** e **tabela 13** foram apresentadas as variações de *Staphylococcus* spp. e de *S. aureus*. Observou-se que uma população média presente na matéria-prima foi de $3,45 \pm 0,18$ e $2,27 \pm 0,13$ log UFC/g. Ao 2º dia a população detectada correspondeu a $6,24 \pm 0,61$ log UFC/g para *Staphylococcus* spp., independentemente da adição ou não de culturas *starter* contendo *Staphylococcus* spp. Ao final do período de maturação (20º dia), a população média de *Staphylococcus* spp. para as produções T5, T7, T8 e T10 foi de $5,56 \pm 0,47$ log UFC/g.

A variação da população de *Staphylococcus* spp. entre os salames foi estatisticamente distinta ($p < 0,05$). Comparando as formulações nota-se que as produções T5 e T8, bem como T8 e T10, não se diferenciaram entre si durante o período de maturação (**tabela 13**). Entretanto, analisando o perfil das curvas (**figura 13a**), a formulação T8 (privada de sais de cura) após o 2º dia iniciou uma redução microbiana linear de *Staphylococcus* spp., permanecendo durante o período de maturação.

A população detectada de *S. aureus* foi de $5,47 \pm 0,82$ log UFC/g ao 2º dia, dando início, assim, ao maior decréscimo dessas populações para os salames privados de sais de cura (T8 e T10). Nestas produções, o inóculo adicionado de *S. aureus* no início do processamento foi de $5,71 \pm 0,09$ log UFC/g, ocorrendo redução durante a maturação, porém não sendo totalmente eliminado dos salames tipo Italiano produzidos, a contrário do seria esperado. A população de *S. aureus* obtida ao 20º dia foi de $4,69 \pm 0,78$ log UFC/g para os salames T5, T7, T8 e T10, tendo variado de 3,65 (T10) a 5,3 log UFC/g (T5).

O perfil das curvas microbianas (**figura 13b**) mostra que a variação da população de *Staphylococcus aureus* nas produções T8 e T10 (privadas de sais de cura) diferenciou-se das produções T5 e T7 (adicionadas de sais de cura) durante o período de maturação. Observou-se nestas formulações que a ausência de sais de cura nas produções T8 e T10 ocasionou melhor redução microbiana em relação às demais produções. Durante o período de maturação, as variações foram consideradas estatisticamente distintas ($p < 0,05$). Entretanto, as reduções microbianas observadas para as produções T5 e T7 (adicionados de sais de cura) foram consideradas

homogêneas, assim como aquelas para as produções T8 e T10 (privadas de sais de cura).

De acordo com a **figura 13a** e a **tabela 13**, foi observada uma população média de *Staphylococcus* spp. de $5,13 \pm 0,55$ log UFC/g, tendo variado de 4,51 (T8) a 5,84 (T7) log UFC/g no início da vida-de-prateleira dos salames. Nas produções T5 e T8 foi observada a presença de *Staphylococcus* spp. ao 70° e 60° dia da vida-de-prateleira numa população média de 2,21 e de 2,56 log UFC/g. A partir deste período não foi mais verificada a presença destes microrganismos nestas produções, a não ser *Staphylococcus aureus*. Para a produções T7 e T10, adicionados de 3 tipos culturas *starter*, observou-se uma população média ao 90° dia de $3,97 \pm 0,88$ log. Nestas produções ocorreu uma redução ao longo da vida-de-prateleira de cerca de 1 a 2 ciclos log. Esses resultados são importantes para evidenciar que o gênero *Staphylococcus* spp. presente nas culturas *starter* resistem ao longo de todo o período de maturação e vida-de-prateleira dos salames (T7 e T10), ao contrário do que ocorre com aqueles naturalmente presentes na carne (T5 e T8). Esse fato foi confirmado pelas diferenças obtidas com relação aos valores D entre as produções T5 e T8 (14 e 18 dias) e as produções T7 e T10 (47 e 46 dias), conforme pode ser constatado na **tabela 13**.

Ainda com relação à população de *Staphylococcus* spp., foram detectadas variações significativas ($p < 0,05$) entre as formulações T5, T10 e T7 durante a vida-de-prateleira. As produções T5 e T8, quando comparadas, tiveram resultados estatísticos semelhantes, assim como, as produções T8 e T10. Apesar dos resultados estatísticos, nas produções que não foram adicionadas de culturas *starter* (T5 e T8) foram detectadas populações inferiores de *Staphylococcus* spp. durante todo o período de armazenamento, particularmente a partir do 40° dia e 50° dia. Nestas produções (T5 e T8), foram detectadas representantes do gênero *Staphylococcus* spp. somente até o 60° e 70° dias. As produções T7 e T10, mesmo apresentando curvas semelhantes (**figura 13**), foram estatisticamente distintas ($p < 0,05$), possivelmente devido ao aumento dessas populações após o 2° dia de maturação na produção T7.

Tabela 13 – Média, desvio padrão e valores D das populações de *Staphylococcus* spp e *Staphylococcus aureus* obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas *starter* (T5, T7, T8 e T10) e com a adição (T5, T7) ou não (T8, T10) de sais de cura.

Etapa	Tempo (dias)	Média das populações (log UFC/g)					
		StT5	StT7	StT8	StT10	Média ¹	DP
MP	0	3,33	3,32	3,45	3,70	3,45	0,18
	2	6,15	6,66	6,74	5,42	6,24	0,61
MT	10	6,09	6,26	5,55	5,58	5,87	0,36
	20	5,81	5,98	4,90	5,55	5,56	0,47
Média ²		6,02^{ab}	6,30^b	5,73^a	5,52^a		
VP	30	5,13	5,84	4,51	5,05	5,13	0,55
	40	4,73	5,68	4,26	4,97	4,91	0,59
	50	3,57	5,51	3,65	4,87	4,40	0,95
	60	2,45	5,33	2,56	4,63	3,74	1,46
	70	2,21	4,90	nd	4,27	3,79	1,41
	80	Nd	4,71	nd	4,07	4,39	0,45
	90	Nd	4,59	nd	3,34	3,97	0,88
Média ³		3,62^a	5,11^c	3,81^{ab}	4,46^b		
Valor D ⁴ (dias)		14	47	18	46		
		SaT5	SaT7	SaT8	SaT10	Média ¹	DP
MP	0	2,44	2,20	2,15	2,28	2,27	0,13
Inóculo		5,63	5,65	5,73	5,83	5,71	0,09
MT	2	6,52	5,67	4,66	5,02	5,47	0,82
	10	5,70	5,48	4,67	4,28	5,03	0,67
	20	5,3	5,27	4,52	3,65	4,69	0,78
Média ²		5,84^b	5,47^b	4,61^a	4,32^a		
VP	30	5,26	5,28	3,43	2,76	4,18	1,29
	40	5,13	4,98	3,18	2,25	3,89	1,40
	50	4,96	4,60	2,87	nd	4,14	1,12
	60	4,88	4,65	2,22	nd	3,92	1,47
	70	4,62	4,55	nd	nd	4,59	0,05
	80	4,63	4,30	nd	nd	4,47	0,23
	90	3,69	3,80	nd	nd	3,75	0,08
Média ³		4,74^b	4,59^b	2,93^a	2,51^a		
Valor D ⁴ (dias)		69	58	21	14		

MP- matéria-prima; MT- maturação; VP- vida-de-prateleira; St- *Staphylococcus* spp.; Sa- *Staphylococcus aureus*; DP- desvio padrão, nd- não detectado. 1- média entre os tratamentos estudados (T5, T7, T8 e T10); 2- médias das múltiplas análises correspondentes ao período de maturação de cada tratamento (dias 2, 10 e 20); 3- médias das múltiplas análises correspondentes à vida-de-prateleira de cada tratamento (30° ao 90° dia); 4- Cálculo do valor D correspondente aos resultados obtidos durante a maturação e vida-de-prateleira. Letras coincidentes indicam valores estatisticamente iguais (p>0,05).

Com relação à população de *S. aureus*, observou-se uma população média ao 30º dia de 5,27 log UFC/g para as produções T5 e T7 e 3,43 e de 2,76 log UFC/g para as T8 e T10, respectivamente, conforme apresentado na **figura 13b** e na **tabela 13**. Na produção T10 somente foi verificada a presença de *S. aureus* até o 40º dia, numa população média de 2,25 log UFC/g, enquanto que na produção controle T8, esta presença foi detectada até o 60º dia, numa população média de 2,22 log UFC/g. Para as produções T5 e T7 observou-se que o microrganismo permaneceu até o 90º dia numa população média de $3,75 \pm 0,08$ log UFC/g.

As populações de *Staphylococcus aureus* revelaram diferenças significativas ($p < 0,05$) para as produções T5 e T7 (adicionadas de sais de cura), e as produções T8 e T10 (privadas de sais de cura). Conforme apresentado na **figura 13b**, claramente nota-se que as produções privadas de sais de cura apresentaram melhores resultados quanto à redução de *S. aureus* durante a vida-de-prateleira para as variáveis estudadas nesta etapa. Verificou-se ainda que a produção T10 (adicionada de 3 culturas *starter* e privada de sais de cura) foi a que mais rapidamente eliminou o patógeno inoculado. Essas observações foram confirmadas pelas diferenças entre os valores D obtidos. Assim, as produções privadas de sais de cura (T8 e T10) apresentaram valores D (21 e 14 dias) cerca de 3 a 5 vezes menores que aquelas adicionadas desses aditivos (T5 e T7, 69 e 58 dias, respectivamente), conforme pode ser constatado na **tabela 13**.

Os resultados referentes à variação de pH e atividade de água foram apresentados na **tabela 14** e **figuras 14a** e **14b**, verificando-se um valor médio de pH ao 2º dia de $5,63 \pm 0,34$ para as produções estudadas. Ao 20º dia, o pH reduziu a um valor médio de $4,90 \pm 0,07$, enquanto que a atividade de água durante o período de maturação reduziu de 0,94 a $0,83 \pm 0,01$.

Os valores de pH (**tabela 14** e **figura 14**) ao 30º dia variaram de 4,63 (T10) a 5,19 (T5), tendo ocorrido um aumento gradativo durante a vida-de-prateleira até alcançar valores de $5,30 \pm 0,14$ aos 90 dias. Para a atividade de água, os resultados permaneceram constantes durante a vida-de-prateleira dessas produções com valores médios de $0,82 \pm 0,01$. Através da análise estatística foi verificado que o pH revelou diferenças entre as formulações T8 (sem sal de cura) e as T5 e T7 (com sal de cura) e entre a T10 (sem sal de cura) e a T7 ($p < 0,05$). Analisando as curvas apresentadas na

figura 14a, as produções T5, T7, T8 e T10 não apresentaram diferenças visíveis. As produções T8 e T10 (privadas de sais de cura) foram estatisticamente semelhantes, bem como as produções T5 e T10 (adicionadas e privadas de sais de cura) quando comparadas. Em virtude do aumento observado em todos os lotes, constatou-se que apenas as produções T7 e T8 diferenciaram-se durante o armazenamento do produto, particularmente após o 40º dia.

Para os demais microrganismos estudados (bactérias lácticas e mesófilas), bem como para a atividade de água, não foram verificadas diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$), conforme apresentado nas **tabelas 12 e 14**.

Assim sendo, observou-se, com relação às produções T5, T7, T8 e T10, que as produções T7 (com 3 culturas e adicionadas de sais de cura) mantiveram um valor de pH significativamente mais alto ($p < 0,05$) quando comparado às formulações sem sais de cura (T8 e T10), particularmente após o período de maturação. A formulação T7, bem como a T5 (ambas adicionadas de sais de cura) apresentaram-se significativamente mais desfavoráveis em relação à redução de *S. aureus*, particularmente quando comparada às demais produções. As referidas formulações chegaram ao final da vida de prateleira ainda apresentando uma população média de 3,50 log UFC/g.

Apesar dos produtos terem atingido suas características físico-químicas próprias, as mesmas não foram suficientes para eliminar *Staphylococcus aureus*, considerado como um perigo à saúde do consumidor, independentemente da adição ou não de 3 tipos de culturas *starter*. BALDUINO *et al.* (1999) estudaram algumas associações entre as bactéria lácticas *Lactobacillus*, *Pediococcus* e *Enterococcus*, visando obter, entre outros objetivos, a inibição de *S. aureus*, *Salmonella* spp. e *E. coli* enteropatogênica em lingüiça frescal de frango. Os autores relataram que a adição de bactérias lácticas na carne de frango 24 horas antes do embutimento levou a uma diminuição dos patógenos estudados logo no início do tratamento. No presente trabalho este período de repouso não ocorreu. Esse fato possivelmente contribuiu para a não eliminação da população de *S. aureus* durante o período de maturação.

Tabela 14 – Valores médios de pH e de atividade de água obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processado com a adição de culturas *starter* (T5, T7, T8 e T10) e com a adição (T5, T7) ou não (T8, T10) de sais de cura.

Etapa	Tempo (dias)	Valores médios obtidos					
		pHT5	pHT7	PHT8	pHT10	Média ¹	DP
MP	0	6,74	6,95	6,76	6,54	6,75	0,17
	2	5,56	5,43	5,39	6,13	5,63	0,34
MT	10	5,24	5,47	4,80	4,53	5,01	0,42
	20	4,93	4,92	4,8	4,94	4,90	0,07
Média ²		5,24^a	5,27^a	5,00^a	5,20^a		
VP	30	5,19	5,04	4,73	4,63	4,90	0,26
	40	5,01	5,09	4,58	4,77	4,86	0,23
	50	5,00	5,12	4,96	5,01	5,02	0,07
	60	5,06	5,26	5,01	5,08	5,10	0,11
	70	5,17	5,36	5,17	5,26	5,24	0,09
	80	5,35	5,48	5,15	5,26	5,31	0,14
90	5,29	5,50	5,18	5,21	5,30	0,14	
Média ³		5,15^{bc}	5,26^c	4,97^a	5,03^{ab}		
		AaT5	AaT7	AaT8	AaT10	Média¹	DP
MP	0	0,96	0,96	0,96	0,94	0,96	0,01
	2	0,94	0,94	0,94	0,94	0,94	0,00
MT	10	0,91	0,91	0,91	0,90	0,91	0,01
	20	0,84	0,84	0,83	0,82	0,83	0,01
Média ²		0,90^a	0,89^a	0,89^a	0,89^a		
VP	30	0,82	0,83	0,82	0,83	0,83	0,01
	40	0,82	0,82	0,81	0,81	0,82	0,01
	50	0,82	0,82	0,81	0,81	0,82	0,01
	60	0,82	0,82	0,81	0,81	0,82	0,01
	70	0,82	0,82	0,81	0,80	0,81	0,01
	80	0,82	0,82	0,81	0,81	0,82	0,01
90	0,82	0,82	0,81	0,81	0,82	0,01	
Média ³		0,82^a	0,82^a	0,81^a	0,81^a		

MP- matéria-prima; MT- maturação; VP- vida-de-prateleira; Aa- atividade de água; DP- desvio padrão. 1- média entre os tratamentos estudados (T5, T7, T8 e T10); 2- médias das múltiplas análises correspondentes ao período de maturação de cada tratamento (dias 2, 10 e 20); 3- médias das múltiplas análises correspondentes à vida-de-prateleira de cada tratamento (30° ao 90°dia). Letras coincidentes indicam valores estatisticamente iguais (p>0,05).

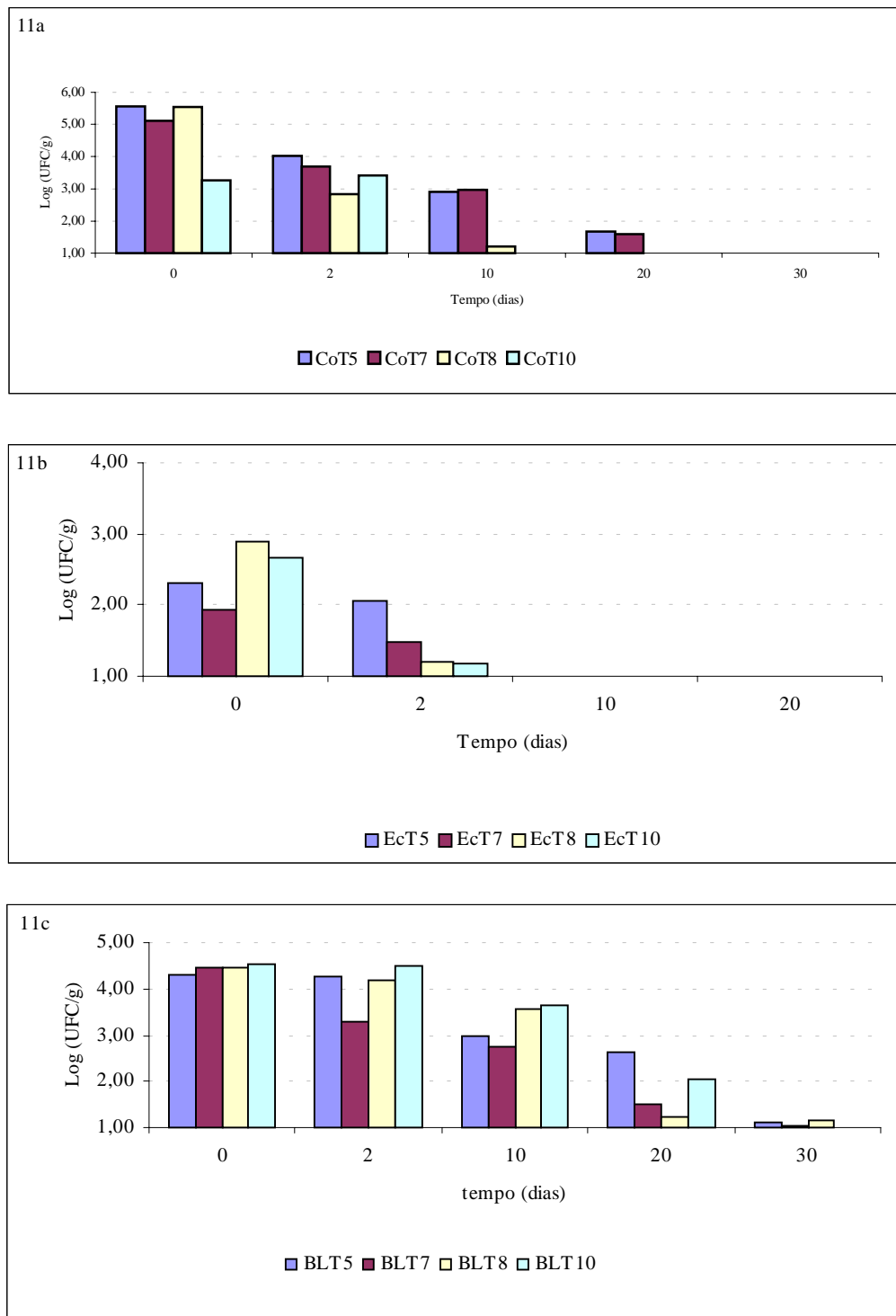


Figura 11 – Populações médias de coliformes, de *Escherichia coli* e de bolores e leveduras em salames tipo Italiano com (T5) e sem adição de sais de cura (T8), com adição de 3 tipos de culturas *starter* (T7 e T10) durante a maturação e vida-de-prateleira.

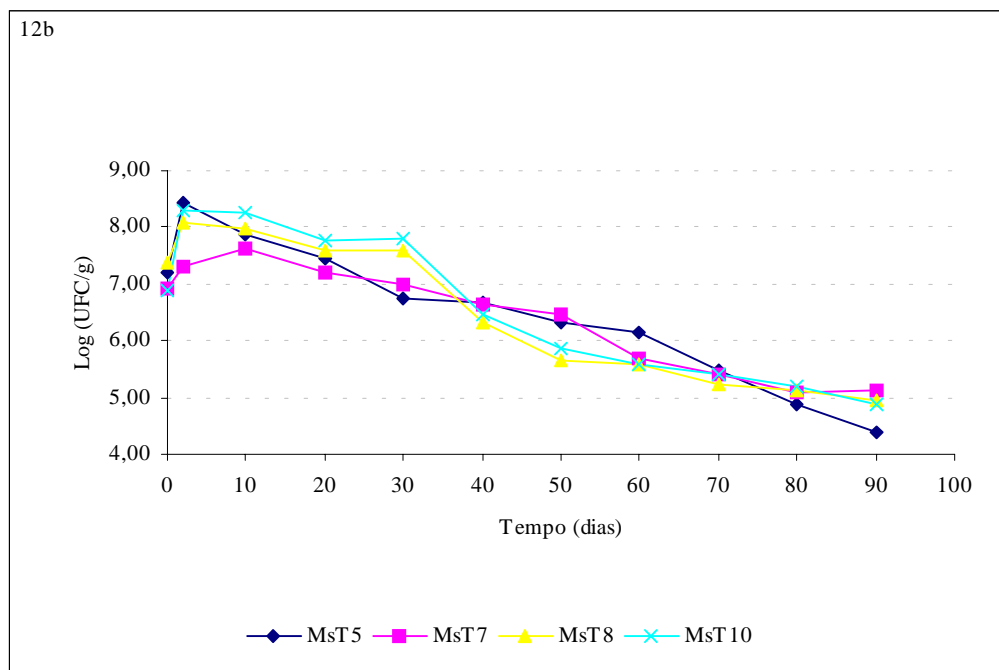
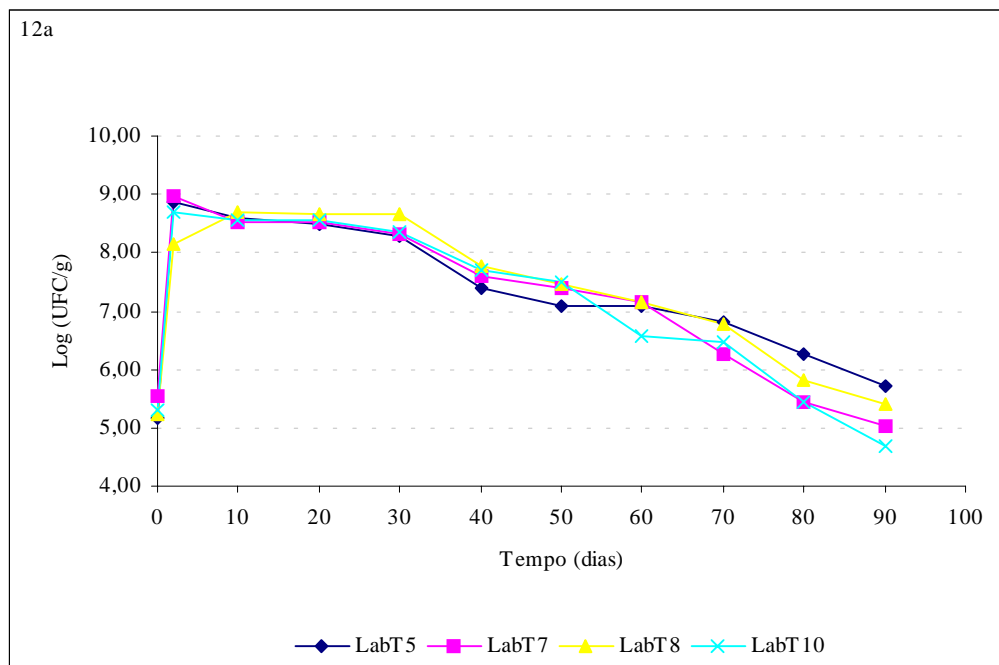


Figura 12- Populações médias de bactérias lácticas e de mesófilos em salames tipo Italiano com (T5) e sem adição de sais de cura (T8), com adição de 3 tipos de culturas *starter* (T7 e T10) durante a maturação e vida-de-prateleira.

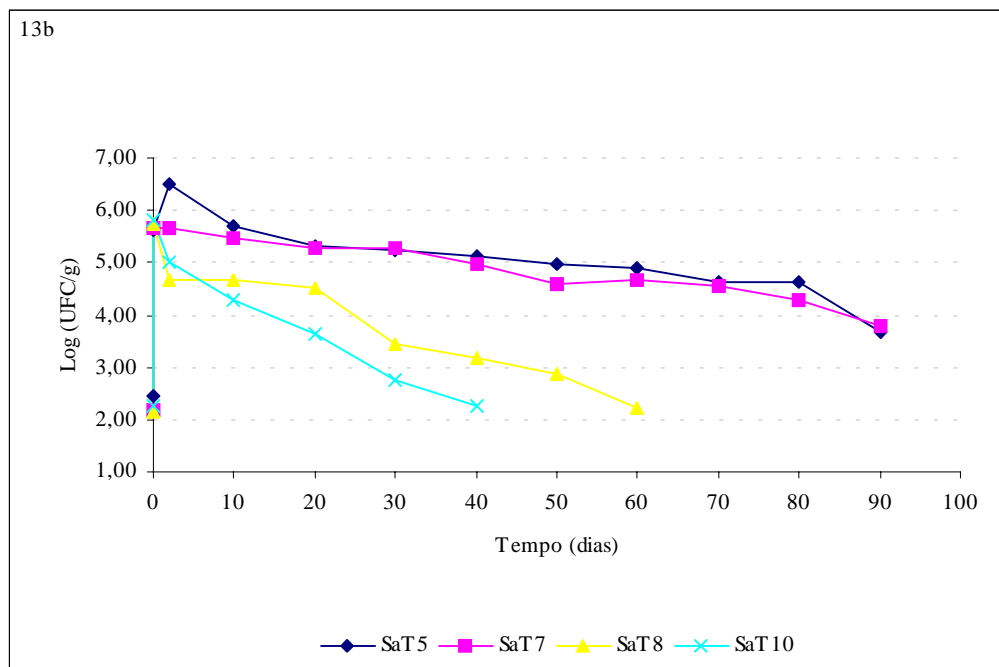
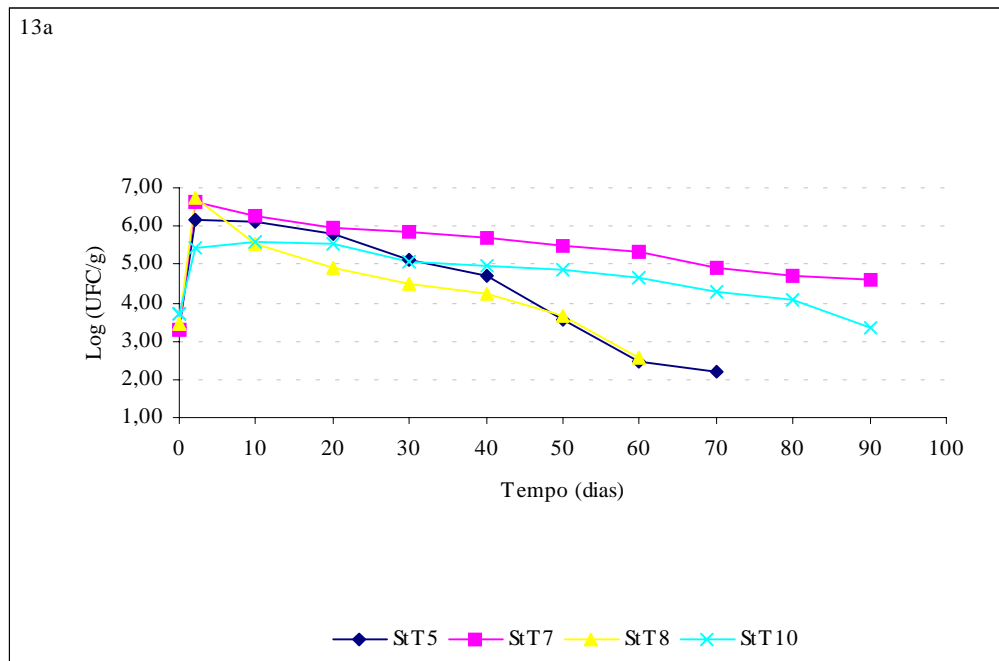


Figura 13 - Populações médias de *Staphylococcus* spp. e de *Staphylococcus aureus** em salames tipo Italiano com (T5) e sem adição de sais de cura (T8), com adição de 3 tipos de culturas *starter* (T7 e T10) durante a maturação e vida-de-prateleira.

* Inóculo de $5,71 \pm 0,09$ log UFC/g

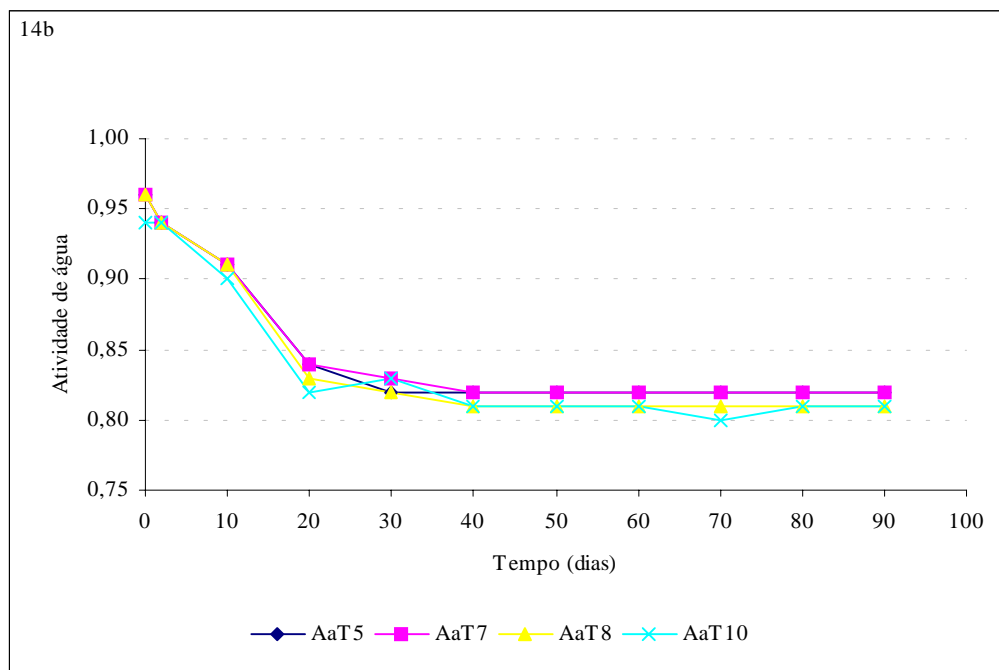
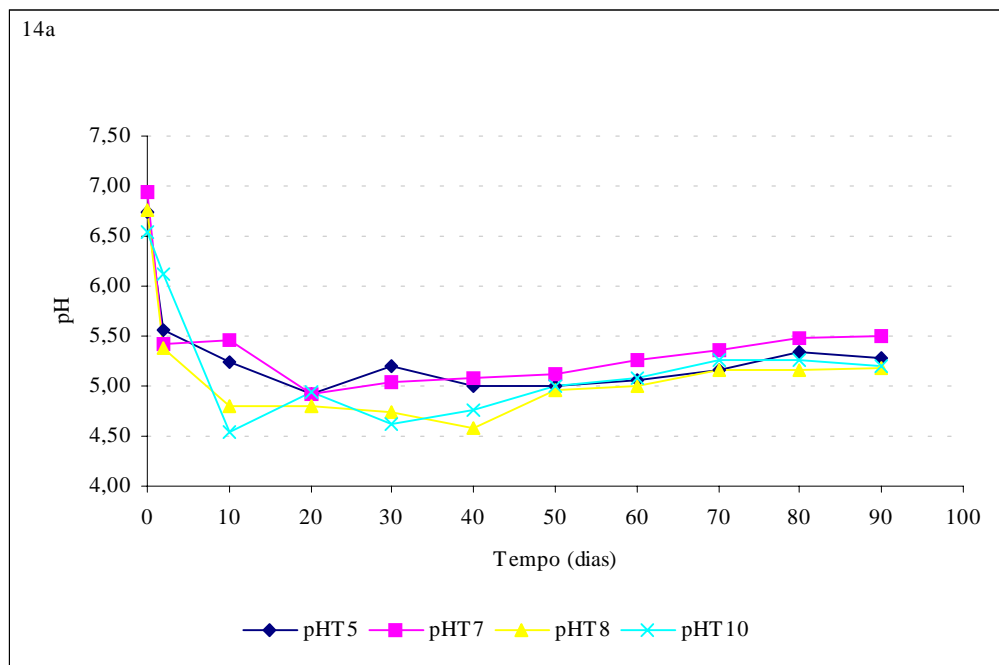


Figura 14 – Valores médios de pH e de atividade de água em salames tipo Italiano com (T5) e sem adição de sais de cura (T8), com adição de 3 tipos de culturas *starter* (T7 e T10) durante a maturação e vida-de-prateleira.

4 - Características de salames tipo Italiano preparados com (T11) e sem (T13) *Lactobacillus sake* 2a, com (T11) e sem (T13) adição de sais de cura, não inoculados com *Staphylococcus aureus*.

Estas produções, bem como as T12 e T14, tiveram por objetivo adicionar uma cultura caracterizada como produtora de bacteriocina isolada de lingüiça frescal (MARTINIS & FRANCO; 1998, ROSA *et al.*, 2002), a fim de verificar o seu efeito em um embutido maturado e com baixa atividade de água, adicionado ou não de sais de cura.

Foram apresentadas nas **tabelas 15, 16 e 17**, as populações médias dos microrganismos estudados obtidas para as produções T11 e T13 durante os períodos de maturação e vida-de-prateleira. Na matéria-prima nota-se que a população média de *Escherichia coli* foi de $3,02 \pm 1,34$ log UFC/g, de $4,13 \pm 1,13$ log UFC/g para bolores e leveduras e de $3,01 \pm 0,81$ log UFC/g para coliformes totais.

Uma das principais características analisadas durante o estudo — o pH, não reduziu conforme seria esperado (**figura 18a**). Conseqüentemente, observou-se uma quantidade e sobrevivência maior de microrganismos considerados como indicadores de higiene e qualidade.

De acordo com a **tabela 15**, a população média de coliformes nas produções T11 e T13 ao 2º dia foi de $3,48 \pm 0,26$ log UFC/g reduzindo ao 20º dia em cerca de $0,64$ log UFC/g. Ao 2º dia de maturação houve um aumento da população de coliformes totais, particularmente para a produção T11. A partir deste período observa-se um declínio na curva microbiana, detectando-se ao 20º dia uma população bastante próxima à detectada na matéria-prima (**figura 15**). As diferenças entre as curvas de crescimento de *E. coli* nas produções T11 e T13, visíveis na **figura 15b**, refletem a maior contaminação da matéria-prima empregada para a produção T13, em termos da população média desses microrganismos. A população média de *E. coli* foi de 2,07 (T11) e de 3,97 log UFC/g (T13), observando-se ao 10º dia uma redução da população para 1,00 e 2,60 log UFC/g, respectivamente. Na produção T13, *E. coli* esteve presente até o 20º dia, com uma população média de 1,90 log UFC/g, o que refletiu em uma diferença significativa entre T11 e T13 com relação à redução de *E. coli* ($p < 0,05$).

Tabela 15 – Média, desvio padrão e valores D das populações de coliformes totais, *Escherichia coli* e bolores e leveduras obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas *starter* (T11 e T13) e com a adição (T11) ou não (T13) de sais de cura.

Etapa	Tempo (dias)	Média das populações (log UFC/g)			
		CoT11	CoT13	Média ¹	DP
MP	0	2,43	3,58	3,01	0,81
	2	3,29	3,66	3,48	0,26
MT	10	2,35	3,69	5,35	0,95
	20	2,38	3,30	2,84	0,65
Média²		2,67^a	3,55^b		
VP	30	1,41	2,34	1,88	0,66
Média³		1,41^a	2,34^b		
		EcT11	EcT13	Média ¹	DP
MP	0	2,07	3,97	3,02	1,34
	2	1,36	3,41	2,39	1,45
MT	10	1,00	2,60	4,53	1,13
	20	nd	1,90	1,90	nc
Média²		1,18^a	2,64^b		
		BLT11	BLT13	Média ¹	DP
MP	0	4,93	3,33	4,13	1,13
	2	4,33	4,59	4,46	0,18
MT	10	3,89	3,86	5,92	0,02
	20	2,73	2,72	2,73	0,01
Média²		3,65^a	3,72^b		
VP	30	1,73	1,92	1,83	0,13
VP	40	1,04	1,00	1,02	0,03
Média³		1,38^a	1,46^a		
Valor D⁴ (dias)		11	11		

MP- matéria-prima; MT- maturação; VP- vida-de-prateleira; Co- coliformes totais; Ec- *Escherichia coli*; BL- bolores e leveduras; DP- desvio padrão; nd- não detectado, nc- não calculado. 1- média entre os tratamentos estudados (T5, T7, T8 e T10); 2- médias das múltiplas análises correspondentes ao período de maturação de cada tratamento (dias 2, 10 e 20); 3- médias das múltiplas análises correspondentes à vida-de-prateleira de cada tratamento (30° ao 90°dia); 4- Cálculo do valor D correspondente aos resultados obtidos durante a maturação e vida-de-prateleira. Letras coincidentes indicam valores estatisticamente iguais (p>0,05).

De acordo com a **figura 15a** e a **tabela 15**, foi detectada uma população média de 2,34 (T13) e 1,41 log UFC/g (T11) de coliformes nas produções ao 30° dia, período após o qual os microrganismos deixaram de ser detectados. Não foram obtidas populações de *E. coli* para os salames T11 e T13 durante a vida-de-prateleira

(**figura 15b**). Foi detectada diferença significativa quanto à redução de coliformes ($p < 0,05$), observando-se a presença destes microrganismos até o 30º dia (**tabela 15**).

A população de bolores e leveduras reduziu de $4,13 \pm 1,13$ log UFC/g presentes na matéria-prima para $2,73 \pm 0,01$ log UFC/g ao 20º dia. Esta população foi de $1,83 \pm 0,13$ log UFC/g ao 30º dia e $1,02 \pm 0,03$ log UFC/g ao 40º dia. Observa-se na **tabela 15** que, além de não terem sido detectadas diferenças significativas ao longo do período de vida-de-prateleira ($p > 0,05$), os valores D não se diferenciaram durante o período de estudo entre as produções, sendo necessários 11 dias para a redução de 1 ciclo log de bolores e leveduras.

Para os microrganismos mesófilos e bactérias lácticas observou-se na matéria-prima uma população média de $6,53 \pm 0,30$ e $6,34 \pm 0,06$ log UFC/g (**tabela 16**, **figuras 16a** e **16b**). Ao 2º dia de maturação esta população aumentou para $7,67 \pm 0,35$ e $7,25 \pm 0,36$ log UFC/g, reduzindo em cerca de 1 e 0,5 ciclos log do 2º ao 20º dia para microrganismos mesófilos e bactérias lácticas, respectivamente. Ao 20º dia foi detectada uma população média de $6,68 \pm 0,10$ e $6,82 \pm 0,27$ log UFC/g, respectivamente, não tendo sido detectadas diferenças significativas para as populações desses microrganismos entre T11 e T13 ao longo da maturação ($p > 0,05$). Observou-se uma redução do 30º ao 90º dia de 2,20 e 2,55 log UFC/g para mesófilas e bactérias lácticas. Ao 30º dia as populações médias de bactérias lácticas e de microrganismos mesófilos nas produções T11 e T13 foram de $6,09 \pm 0,42$ e de $6,40 \pm 0,30$ log UFC/g reduzindo ao 90º dia para $4,20 \pm 0,28$ e $3,54 \pm 0,74$ log UFC/g, respectivamente.

Observa-se na **tabela 16** que, durante o período de estudo, a redução de 1 ciclo log (valor D) nas produções T11 e T13 foi a cada 35 e 29 dias quanto aos número de microrganismos mesófilos e a cada, 29 e 30 dias, quanto à redução de bactérias lácticas. Apesar da pequena diferença detectada entre T11 e T13 com relação aos valores D relativos à redução de bactérias lácticas, a análise estatística detectou uma maior eficiência nessa redução para T11 ao longo da vida-de-prateleira ($p < 0,05$).

Tabela 16 – Média, desvio padrão e valores D das populações de microrganismos mesófilos e bactérias lácticas obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas *starter* (T11 e T13) e com a adição (T11) ou não (T13) de sais de cura.

Etapa	Tempo (dias)	Média das populações (log UFC/g)			
		MsT11	MsT13	Média ¹	DP
MP	0	6,74	6,31	6,53	0,30
	2	7,92	7,42	7,67	0,35
MT	10	6,93	7,30	8,08	0,26
	20	6,61	6,75	6,68	0,10
Média ²		7,15^a	7,16^a		
VP	30	6,18	6,61	6,40	0,30
	40	5,99	6,00	6,00	0,01
	50	5,76	5,61	5,69	0,11
	60	5,63	5,42	5,53	0,15
	70	5,53	5,01	5,27	0,37
	80	4,88	4,71	4,80	0,12
	90	4,40	4,00	4,20	0,28
Média ³		5,48^a	5,34^a		
Valor D ⁴ (dias)		35	29		
Etapa	Tempo (dias)	Média das populações (log UFC/g)			
		LabT11	LabT13	Média ¹	DP
MP	0	6,38	6,29	6,34	0,06
	2	6,99	7,50	7,25	0,36
MT	10	6,47	7,33	7,93	0,61
	20	6,63	7,01	6,82	0,27
Média ²		6,70^a	7,03^a		
VP	30	5,79	6,39	6,09	0,42
	40	5,15	5,99	5,57	0,59
	50	5,38	5,80	5,59	0,30
	60	4,93	5,36	5,15	0,30
	70	4,69	5,28	4,99	0,42
	80	4,18	4,84	4,51	0,47
	90	3,02	4,06	3,54	0,74
Média ³		4,73^a	5,39^b		
Valor D ⁴ (dias)		29	30		

MP- matéria-prima; MT- maturação; VP- vida-de-prateleira; Ms- microrganismo mesófilos; Lab- bactérias lácticas DP- desvio padrão. 1- média entre os tratamentos estudados (T5, T7, T8 e T10); 2- médias das múltiplas análises correspondentes ao período de maturação de cada tratamento (dias 2, 10 e 20); 3- médias das múltiplas análises correspondentes à vida-de-prateleira de cada tratamento (30° ao 90°dia); 4- Cálculo do valor D correspondente aos resultados obtidos durante a maturação e vida-de-prateleira. Letras coincidentes indicam valores estatisticamente iguais (p>0,05).

No caso de *Staphylococcus* spp., foi verificado na matéria-prima uma população de $4,68 \pm 0,04$ log UFC/g. Ao 2º dia a população desses microrganismos aumentou, em média, para 6,19 e para 7,26 log UFC/g nas produções T11 e T13, respectivamente (**figura 17a** e **tabela 17**). *Staphylococcus aureus* somente foi detectado na matéria-prima numa população de $2,52 \pm 0,01$ log UFC/g, não tendo sido detectado após a elaboração do embutido. Para *Staphylococcus* spp., apesar dos microrganismos não terem sido adicionados à mistura empregada no processamento do produto, a variação entre as populações do dois tipos de produto foi considerada estatisticamente significativa (T11 e T13) já ao longo da maturação ($p < 0,05$), com menor aumento inicial e uma maior redução para T11 a partir do 10º dia de maturação (**figura 17a**).

Verificou-se ao 30º dia uma população média de *Staphylococcus* spp. de $5,95 \pm 0,87$ log UFC/g, reduzindo-se para $3,51 \pm 0,86$ log UFC/g após 90 dias. A redução de *Staphylococcus* spp. foi mais acentuada para a produção T11 (adicionada de sais de cura) do que para a produção T13, também durante a vida-de-prateleira (**figura 17a**), diferença esta considerada estatisticamente significativa ($p < 0,05$) e confirmada pelos valores D obtidos para T11 (23 dias) quando comparado a T13 (36 dias) (**tabela 17**).

Conforme apresentado na **tabela 18**, observou-se que durante o estudo da vida-de-prateleira, os valores de pH das produções T11 e T13 não reduziram-se de acordo com o esperado e observado em outras produções (**Figuras 6b, 10b, 14b e 18b**). Devido ao elevado valor de pH, tornou-se possível detectar coliformes nas produções estudadas após o período de maturação, numa população média de $1,80 \pm 0,66$ log UFC/g ao 30º dia.

De acordo com as **figuras 18a e 18b**, a atividade de água durante a vida-de-prateleira manteve-se constante para as duas produções ($p > 0,05$), enquanto que o pH médio para as produções T11 e T13, ao 30º dia, foi de 6,31 e 5,80, respectivamente. A partir deste período, o pH permaneceu na faixa de 6,2 – 6,3 (T11) e 5,8 – 6,0 (T13), sendo verificado ao 90º dia um valor médio de $6,06 \pm 0,19$. Essa variação de pH com valores sempre superiores para T11 e durante a vida-de-prateleira foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$). Para a atividade de água, as variações entre as

formulações T11 e T13 durante a vida-de-prateleira não foram estatisticamente significativas ($p>0,05$).

Tabela 17 – Média, desvio padrão e valores D das populações de *Staphylococcus* spp e *Staphylococcus aureus* obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas *starter* (T11 e T13) e com a adição (T11) ou não (T13) de sais de cura.

Etapa	Tempo (dias)	Média das populações (log UFC/g)			
		StT11	StT13	Média ¹	DP
MP	0	4,70	4,65	4,68	0,04
	2	6,19	7,26	6,73	0,76
MT	10	6,74	6,83	7,86	0,06
	20	6,10	6,77	6,44	0,47
Média ²		6,34^a	6,95^b		
VP	30	5,33	6,56	5,95	0,87
	40	4,55	6,37	5,46	1,29
	50	4,33	6,11	5,22	1,26
	60	4,51	5,67	5,09	0,82
	70	3,89	5,38	4,64	1,05
	80	3,67	4,92	4,30	0,88
	90	2,90	4,11	3,51	0,86
Média ³		4,17^a	5,59^b		
Valor D ⁴ (dias)		23	36		
MP	0	SaT11	SaT13	Média ¹	DP
		2,53	2,51	2,52	0,01

MP- matéria-prima; MT- maturação; VP- vida-de-prateleira; St- *Staphylococcus* spp.; Sa- *Staphylococcus aureus*; DP- desvio padrão. 1- média entre os tratamentos estudados (T5, T7, T8 e T10); 2- médias das múltiplas análises correspondentes ao período de maturação de cada tratamento (dias 2, 10 e 20); 3- médias das múltiplas análises correspondentes à vida-de-prateleira de cada tratamento (30° ao 90°dia); 4- Cálculo do valor D correspondente aos resultados obtidos durante a maturação e vida-de-prateleira. Letras coincidentes indicam valores estatisticamente iguais ($p>0,05$).

Assim sendo, com relação às formulações T11 e T13, observou-se uma inibição significativamente menor ($p<0,05$) de coliformes, *E. coli* e *Staphylococcus* spp., durante a maturação, e de bactérias lácticas e *Staphylococcus* spp., durante a vida-de-prateleira, para a formulação privada de sal de cura (T13), apesar do pH dessa formulação ter se revelado significativamente menor do que T11, particularmente ao longo da vida-de-prateleira ($p<0,05$). Entretanto, nenhuma das duas produções pode ser considerada como sendo salame, uma vez que ambas não

atingiram o pH esperado para este tipo de produto ao longo de toda a maturação e possível vida-de-prateleira, considerando que o recomendado é um valor de pH de aproximadamente 5,2 para o produto final (CAVENAGHI & OLIVEIRA, 1999).

Tabela 18 – Valores médios de pH e de atividade de água obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas *starter* (T11 e T13) e com a adição (T11) ou não (T13) de sais de cura.

Etapa	Tempo (dias)	Valores médios obtidos			
		pHT11	pHT13	Média ¹	DP
MP	0	5,58	5,95	5,77	0,26
	2	6,25	6,27	6,26	0,01
MT	10	6,27	6,33	7,53	0,04
	20	6,49	6,12	6,31	0,26
Média ²		6,34^a	6,24^a		
VP	30	6,31	5,80	6,06	0,36
	40	6,39	5,88	6,14	0,36
	50	6,20	5,93	6,07	0,19
	60	6,32	5,79	6,06	0,37
	70	6,25	6,00	6,13	0,18
VP	80	6,16	5,89	6,03	0,19
	90	6,19	5,92	6,06	0,19
Média ³		6,26^a	5,89^b		
		AaT11	AaT13	Média ¹	DP
MP	0	0,96	0,95	0,96	0,01
	2	0,94	0,94	0,94	0,00
MT	10	0,92	0,91	3,94	0,01
	20	0,84	0,83	0,84	0,01
Média ²		0,90^a	0,89^a		
VP	30	0,83	0,83	0,83	0,00
	40	0,82	0,82	0,82	0,00
	50	0,82	0,82	0,82	0,00
	60	0,81	0,81	0,81	0,00
	70	0,81	0,81	0,81	0,00
VP	80	0,81	0,80	0,81	0,01
	90	0,82	0,81	0,82	0,01
Média ³		0,81^a	0,81^a		

MP- matéria-prima; MT- maturação; VP- vida-de-prateleira; Aa- atividade de água; DP- desvio padrão. 1- média entre os tratamentos estudados (T5, T7, T8 e T10); 2- médias das múltiplas análises correspondentes ao período de maturação de cada tratamento (dias 2, 10 e 20); 3- médias das múltiplas análises correspondentes à vida-de-prateleira de cada tratamento (30° ao 90°dia). Letras coincidentes indicam valores estatisticamente iguais (p>0,05).

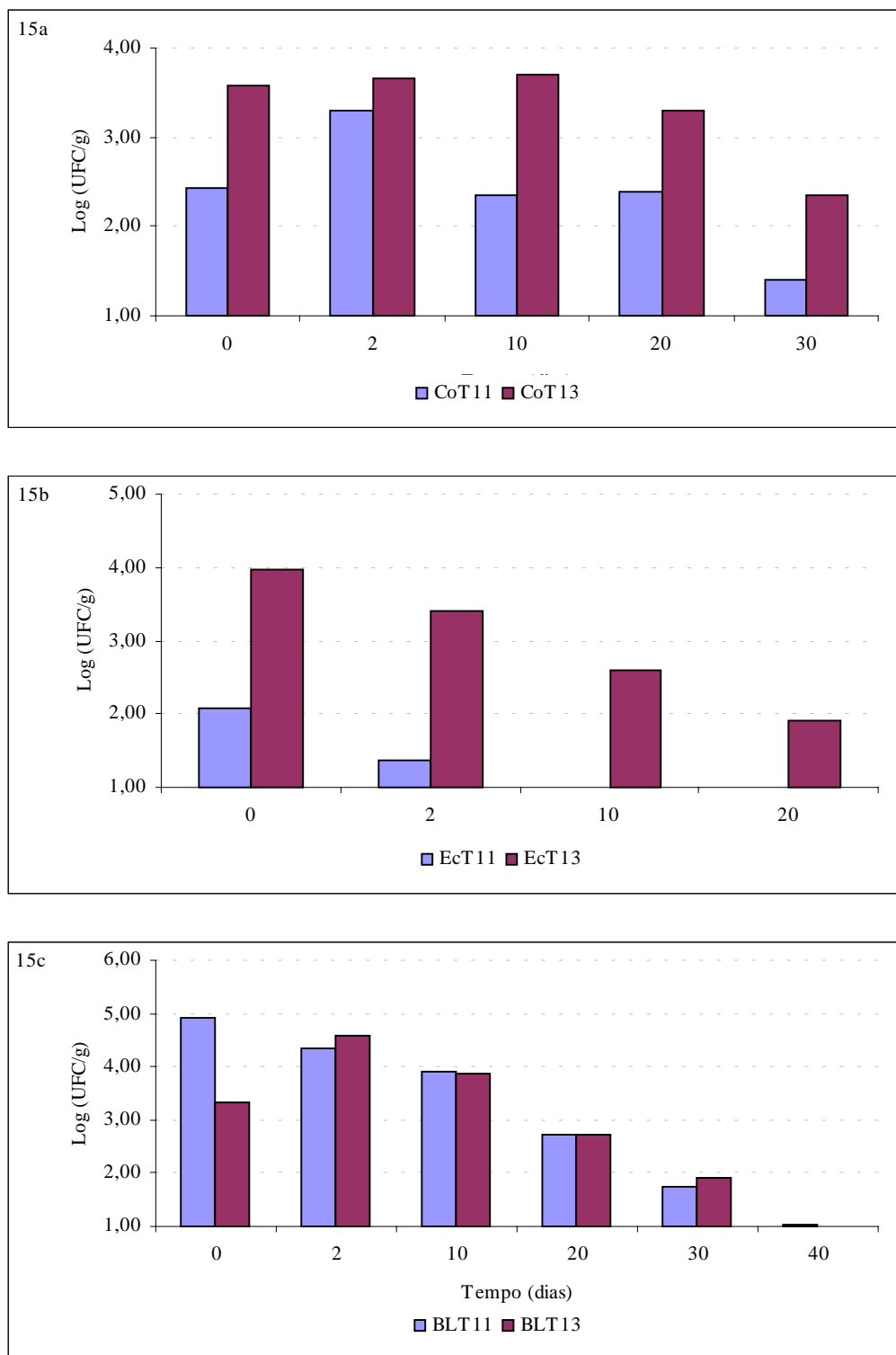


Figura 15 – Populações médias de coliformes, de *Escherichia coli* e de bolores e leveduras em salames tipo Italiano com (T11) e sem adição de sais de cura (T13), com *Lactobacillus sake* 2a (T11 e T13) durante a maturação e vida-de-prateleira.

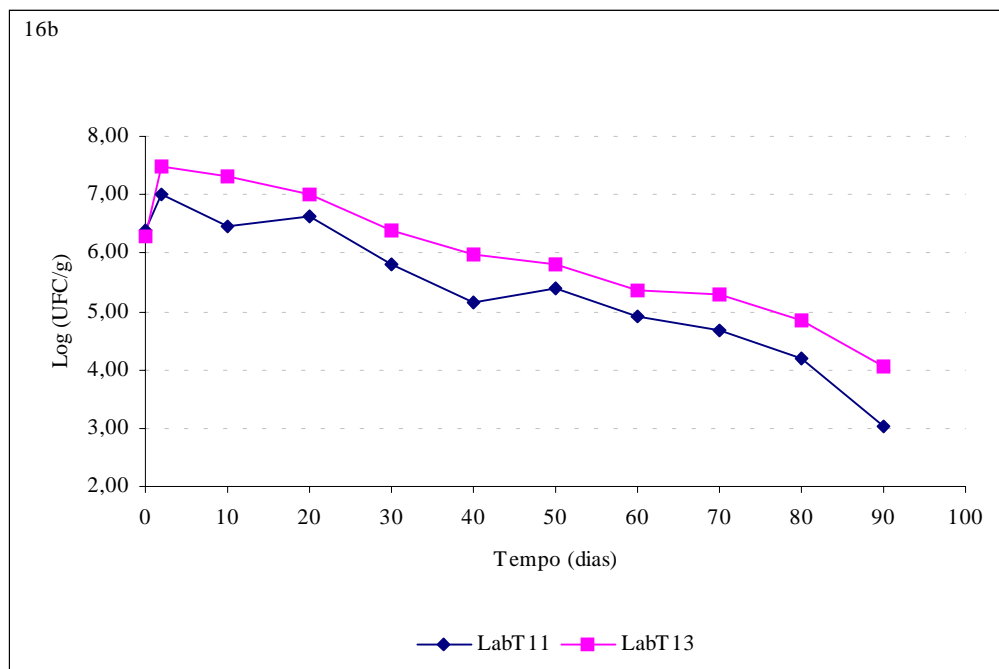
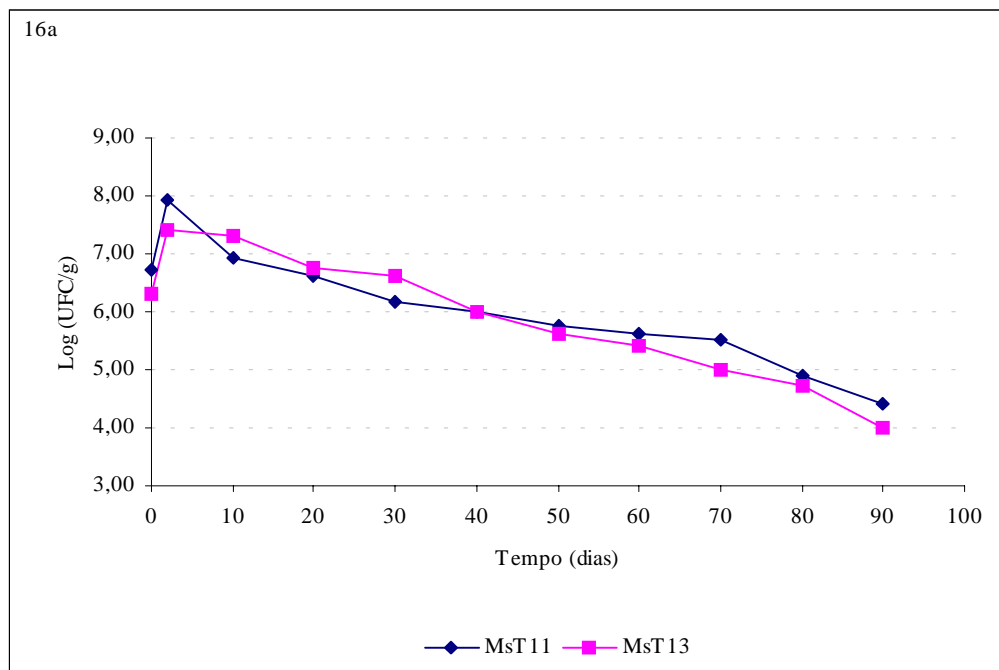


Figura 16 – Populações médias de bactérias lácticas e microrganismos mesófilos em salames tipo Italiano com (T11) e sem adição de sais de cura (T13), com *Lactobacillus sake* 2a (T11 e T13) durante a maturação e vida-de-prateleira.

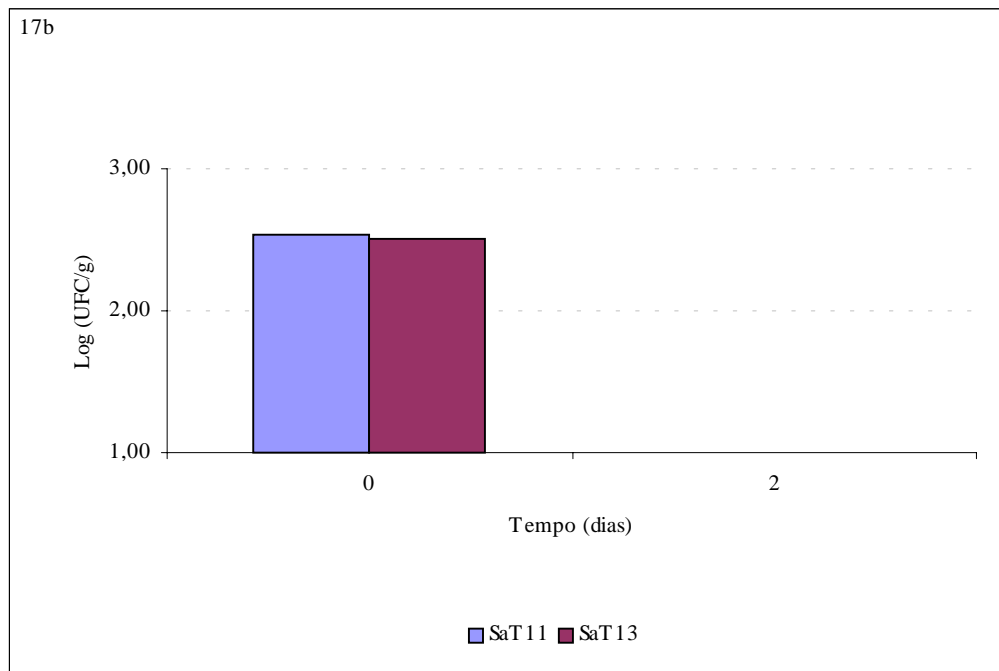
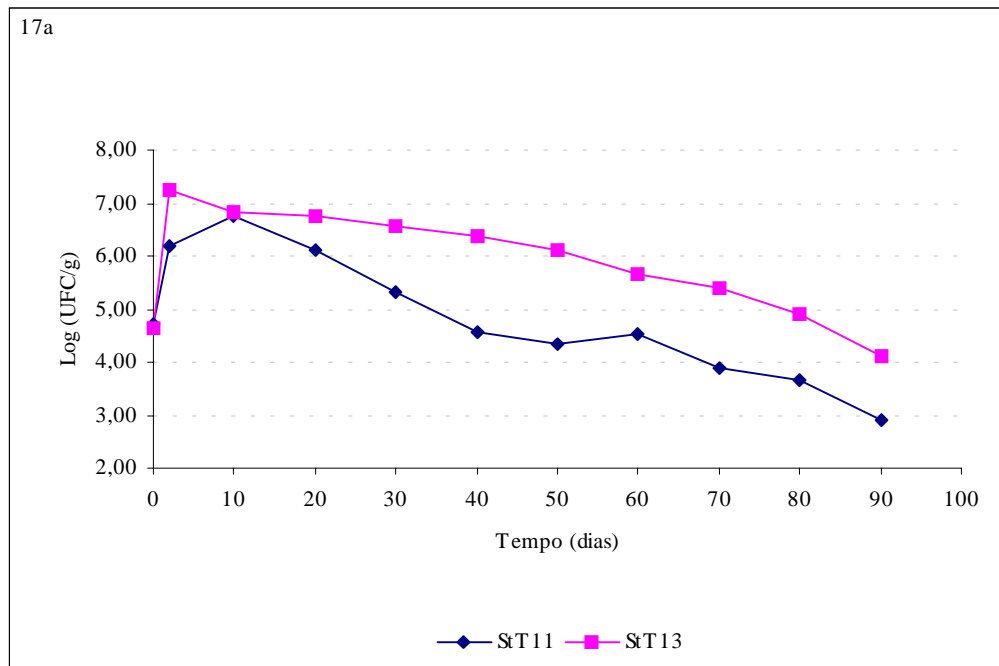


Figura 17 – Populações médias de *Staphylococcus* spp. e de *Staphylococcus aureus* obtidas em salames tipo Italiano com (T11) e sem adição de sais de cura (T13), com *Lactobacillus sake* 2a (T11 e T13) durante a maturação e vida-de-prateleira.

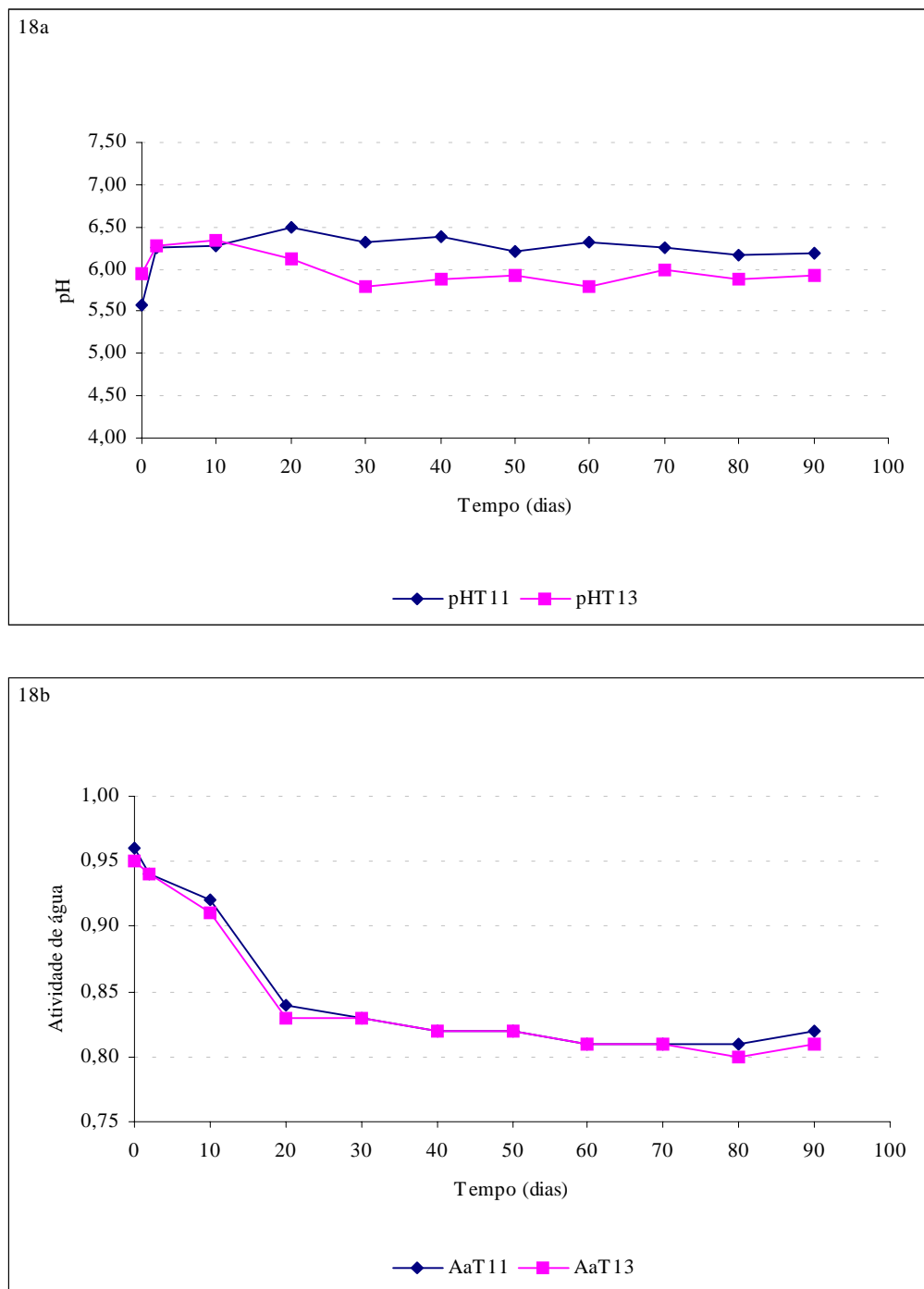


Figura 18 – Valores médios de pH e de atividade de água em salames tipo Italiano com (T11) e sem adição de sais de cura (T13), com *Lactobacillus sake* 2a (T11 e T13) durante a maturação e vida-de-prateleira.

5 - Características de salames tipo Italiano preparados com (T12, T14) e sem (T5, T8) adição de *Lactobacillus sake* 2a, com (T5, T12) e sem (T8, T14) adição de sais de cura, artificialmente contaminados com *S. aureus* (ATCC 25923).

Nesta etapa, foram avaliados os salames tipo Italiano adicionados de *Lactobacillus sake* 2a (T12 e T14) frente aos lotes sem adição de culturas (T5 e T8). Também foram confrontados os produtos contendo sais de cura com os lotes privados dos mesmos.

Observa-se na **tabela 19** que para os lotes T5, T8, T12 e T14 as populações médias presentes na matéria-prima foram de $4,74 \pm 0,93$ log UFC/g, para coliformes totais, de $2,93 \pm 0,47$ log UFC/g, para *Escherichia coli* e de $4,23 \pm 0,63$ log UFC/g, para bolores e leveduras, respectivamente, conforme apresentados nas **figuras 19a, 19b e 19c**. Estas figuras mostram que, durante o período de maturação, há uma redução menor nas populações de coliformes totais, *E. coli* e bolores e leveduras, para os salames T12 (adicionados de sais de cura e de *L. sake* 2a), quando comparados com as demais formulações. O mesmo foi observado quanto à população de coliformes totais dos salames T14 (adicionados de *L. sake* 2a e privados de sais de cura), população esta que sofreu um ligeiro aumento durante os 2 primeiros dias de maturação.

Os salames T8 (sem culturas e sais de cura), por outro lado, tiveram uma redução de coliformes totais e *E. coli*, obtendo-se uma população de cerca de 1,00 log UFC/g ao 10º dia. Assim, a redução das populações de coliformes totais e *E. coli* para as formulações T8 foi de 4,5 e 2 ciclos log, enquanto que a mesma para as formulações T12 e T14 foi de apenas 0,5 e de 2,5 ciclos log. Nos salames T5 ocorreu uma redução de cerca de 2,5 ciclos log na população de coliformes totais durante o período de maturação. Não foi detectada a presença de *E. coli* a partir do 10º dia e após o 20º dia de maturação nas produções T5 e T8, respectivamente. A análise estatística detectou diferenças significativas entre a produção T8 e a T12 e entre a T5 e as T12 e T14, quanto à redução da população de *E. coli* e à redução da população de *E. coli* e de coliformes respectivamente ($p < 0,05$), conforme mostra a **tabela 19**.

Tabela 19 – Média, desvio padrão e valores D de coliformes totais, *Escherichia coli* e bolores e leveduras obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas *starter* (T5, T8, T12 e T14) e com a adição (T5, T12) ou não (T8, T14) de sais de cura.

Etapa	Tempo (dias)	Média das populações (log UFC/g)					
		CoT5	CoT8	CoT12	CoT14	Média ¹	DP
MP	0	5,55	5,54	3,94	3,92	4,74	0,93
	2	4,02	2,83	3,85	4,32	3,76	0,65
MT	10	2,91	1,21	3,28	3,85	2,81	1,14
	20	1,67	nd	2,95	2,93	2,52	0,73
Média ²		2,87^{ab}	2,02^a	3,36^b	3,70^b		
VP	30	nd	nd	1,91	1,94	1,93	0,02
Média ³		nd	nd	1,91^a	1,94^a		
		EcT5	EcT8	EcT12	EcT14	Média ¹	DP
MP	0	2,32	2,90	3,04	3,45	2,93	0,47
	2	2,05	1,19	2,64	2,21	2,02	0,61
MT	10	1,00	1,00	1,62	1,29	1,23	0,30
	20	nd	nd	1,15	1,17	1,16	0,01
Média ²		1,53^a	1,10^a	1,80^b	1,56^a		
		BLT5	BLT8	BLT12	BLT14	Média ¹	DP
MP	0	4,30	4,46	4,82	3,35	4,23	0,63
	2	4,27	4,18	4,86	3,91	4,31	0,40
MT	10	2,98	3,56	4,88	3,41	3,71	0,82
	20	2,63	1,23	3,95	2,28	2,52	1,12
Média ²		3,29^a	2,99^a	4,56^b	3,20^a		
VP	30	1,11	1,16	2,31	1,60	1,55	0,56
	40	nd	nd	1,00	1,00	1,00	0,00
Média ³		1,11^a	1,16^a	1,65^a	1,30^a		
Valor D ⁴ (dias)		10	09	08	13		

MP- matéria-prima; MT- maturação; VP- vida-de-prateleira; Co- coliformes totais; Ec- *Escherichia coli*; DP- desvio padrão; BL- bolores e leveduras; nd- não detectado. 1- média entre os tratamentos estudados (T5, T7, T8 e T10); 2- médias das múltiplas análises correspondentes ao período de maturação de cada tratamento (dias 2, 10 e 20); 3- médias das múltiplas análises correspondentes à vida-de-prateleira de cada tratamento (30° e 40° dia); 4- Cálculo do valor D correspondente aos resultados obtidos durante a maturação e vida-de-prateleira. Letras coincidentes indicam valores estatisticamente iguais (p>0,05).

A presença de bolores e leveduras foi verificada nas produções controle (T5 e T8) ao 30° dia a uma população média de 1,14 log UFC/g, enquanto as produções adicionadas de *L. sake* 2a (T12 e T14), observou-se uma população média ao 30° e 40° dia de 1,65 e 1,00 log UFC/g. Observa-se na **tabela 19** que, durante o período de

estudo, a redução de 1 ciclo log de bolores e leveduras, correspondente ao valor D, foi a cada 10, 09, 08 e 13 dias para as produções T5, T8, T11 e T14, respectivamente.

Observou-se, ainda, que a população bolores e leveduras na produção T12 revelou diferenças significativas ($p < 0,05$) com relação às demais formulações durante o período de maturação. As produções T5, T8 e T14 foram consideradas estaticamente semelhantes, podendo estas semelhanças também ser observadas no **gráfico 19c**. A produção T12 (adicionada de sais de cura) revelou aumento na população de bolores e leveduras durante os dez primeiros dias de maturação, ao contrário das demais. Durante a vida-de-prateleira todas as produções comparadas não foram estatisticamente distintas ($p > 0,05$).

Durante o estudo da vida-de-prateleira dos salames adicionados de *Lactobacillus sake* 2a (T12 e T14), foi possível detectar a presença de microrganismos que deveriam ter sido eliminados durante a maturação, como os coliformes totais (**figura 19a**). Nestas produções foram verificadas populações médias de coliformes ao 30º dia de cerca de $1,93 \pm 0,20$ log UFC/g, possivelmente devido aos altos valores de pH. Não foi detectada a presença de *E. coli* em nenhuma das formulações após o período de maturação.

Para microrganismos mesófilos e bactérias lácticas, verificou-se na matéria-prima uma população média de $7,05 \pm 0,42$ log UFC/g e de $5,55 \pm 0,47$ log UFC/g, conforme apresentado na **tabela 20** e nas **figuras 20a e 20b**. Ao 2º dia de maturação, verificou-se um aumento destas populações de 1 a 2 ciclos log (T12 e T14) a 3,5 ciclos log (T5) para bactérias lácticas e de no máximo 1,2 log UFC/g (T5) para os microrganismos mesófilos, verificando-se, desta forma, uma população média de $7,94 \pm 0,73$ e $7,64 \pm 0,78$, respectivamente.

Praticamente não ocorreu um aumento da população de microrganismos mesófilos para as formulações T12 e T14, havendo, após o 2º e o 10º dia, respectivamente, uma redução constante nessas populações, a qual prosseguiu durante a vida-de-prateleira (**tabela 20 e figura 20a**). Comportamento semelhante foi observado com relação à população de bactérias lácticas para as formulações T12 e T14.

Ao final do período de maturação, as formulações não adicionadas de *L. sake* 2a (T5 e T8) revelaram populações de microrganismos mesófilos e de bactérias

láticas de cerca de 1 e 2 ciclos log superiores às adicionadas do microrganismo produtor de bacteriocinas (T12 e T14).

Para bactérias láticas e microrganismo mesófilos as produções T5 e T8, bem como T12 e T14, foram estatisticamente semelhantes ($p > 0,05$) durante o período de maturação. Observou-se, através da representação gráfica, que nitidamente nos salames não adicionados de culturas permaneciam maior população de bactérias láticas (**figura 20a e 20b**).

Durante a vida-de-prateleira, a população de microrganismos mesófilos e de bactérias láticas nas produções T5 e T8, bem como as adicionadas de *L. sake* 2a, reduziram em média do 30º ao 90º dia em cerca de 1,5 a 2,5 ciclos log, totalizando ao 90º dia uma população média de $4,43 \pm 0,46$ log UFC/g e $4,67 \pm 1,13$ log UFC/g para microrganismos mesófilos e bactérias láticas. De acordo com as **figuras 20a e 20b**, ao 30º dia a população média de microrganismos mesófilos nas produções T5, T8, T12 e T14 foi de $6,63 \pm 0,71$ UFC/g, reduzindo ao 90º dia para $4,43 \pm 1,13$ log UFC/g. Já a redução média das populações de bactérias láticas ao longo da vida-de-prateleira nas produções estudadas foi de aproximadamente 3 ciclos log, tendo sido verificado uma população ao 30º dia de $7,39 \pm 1,26$ log UFC/g, reduzindo para $4,67 \pm 0,1,13$ ao 90º dia.

Observa-se na **tabela 20** que a redução de 1 ciclo log, correspondendo ao valor D, nas produções T5, T8, T12 e T14 foi a cada 23, 25, 32 e 31 dias quanto aos microrganismo mesófilos e, 29, 26, 31 e 27 dias, quanto à redução de bactérias láticas. Verificou-se, desta forma, que nas produções T5 e T8 o período necessário para redução de 1 ciclo log de microrganismo mesófilos foi menor do que as adicionadas de *Lactobacillus sake*. Para bactérias láticas a produção T12 foi a que mais tempo necessitou para a redução de 1 ciclo log, seguida da produção T5.

Tabela 20 – Média, desvio padrão e valores D de microrganismo mesófilos e bactérias lácticas obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas *starter* (T5, T8, T12 e T14) e com a adição (T5, T12) ou não (T8, T14) de sais de cura.

Etapa	Tempo (dias)	Média das populações (log UFC/g)				Média ¹	DP
		MsT5	MsT8	MsT12	MsT14		
MP	0	7,21	7,37	7,18	6,43	7,05	0,42
	2	8,43	8,10	7,31	6,71	7,64	0,78
MT	10	7,89	7,99	7,04	7,19	7,53	0,48
	20	7,45	7,60	6,48	6,77	7,08	0,54
Média ²		7,92^b	7,90^b	6,94^a	6,89^a		
VP	30	6,73	7,58	5,99	6,20	6,63	0,71
	40	6,67	6,34	5,41	5,68	6,03	0,58
	50	6,31	5,67	5,39	5,75	5,78	0,39
	60	6,14	5,59	5,39	5,21	5,58	0,40
	70	5,47	5,24	4,91	5,04	5,17	0,24
	80	4,88	5,13	4,90	4,68	4,90	0,18
	90	4,37	4,95	3,84	4,56	4,43	0,46
Média ³		5,80^b	5,78^b	5,12^a	5,30^{ab}		
Valor D ⁴ (dias)		23	25	32	31		
		LabT5	LabT8	LabT12	LabT14	Média ¹	DP
MP	0	5,18	5,23	6,20	5,57	5,55	0,47
	2	8,86	8,15	7,18	7,55	7,94	0,73
MT	10	8,60	8,69	7,12	6,93	7,84	0,94
	20	8,48	8,66	6,78	6,60	7,63	1,09
Média ²		8,65^b	8,50^b	7,02^a	7,03^a		
VP	30	8,29	8,65	6,31	6,29	7,39	1,26
	40	7,40	7,76	5,66	5,66	6,62	1,12
	50	7,10	7,45	5,58	5,35	6,37	1,06
	60	7,10	7,16	5,52	5,15	6,23	1,05
	70	6,82	6,78	5,04	4,87	5,88	1,07
	80	6,26	5,82	4,80	4,26	5,29	0,92
	90	5,73	5,42	3,25	4,28	4,67	1,13
Média ³		6,96^b	7,00^b	5,16^a	5,12^a		
Valor D ⁴ (dias)		29	26	31	27		

MP- matéria-prima; MT- maturação; VP- vida-de-prateleira; Mesófilos- microrganismo mesófilos; Lab- bactérias lácticas; DP- desvio padrão. 1- média entre os tratamentos estudados (T5, T7, T8 e T10); 2- médias das múltiplas análises correspondentes ao período de maturação de cada tratamento (dias 2, 10 e 20); 3- médias das múltiplas análises correspondentes à vida-de-prateleira de cada tratamento (30° ao 90°dia); 4- Cálculo do valor D correspondente aos resultados obtidos durante a maturação e vida-de-prateleira. Letras coincidentes indicam valores estatisticamente iguais (p>0,05).

Na **tabela 21** e na **figura 21a** foi apresentada a população de *Staphylococcus* spp., observando um aumento de 2 a 3 ciclos log ao 2º dia em relação à matéria-prima, permanecendo relativamente constante durante a maturação, exceto no caso da produção T8, as quais tiveram sua população reduzida durante esse período em cerca de 2 ciclos log.

Para *Staphylococcus aureus* (inoculado cerca de 6,00 log UFC/g), observou-se uma redução média de 1 a 2 ciclos log durante o período de maturação nos lotes analisados. Para a produção T8 observou-se uma redução inicial (até o 2º dia) na população desse patógeno, permanecendo ao final da maturação. Na produção T12 (adicionada de *L. sake* e sais de cura) a população de *S. aureus* reduziu gradualmente ao longo de todo o período de maturação, atingindo valores próximos da formulação T8 ao 20º dia (ligeiramente abaixo de 5,00 log UFC/g). Já no caso das formulações T5 e T14, ambas tiveram suas populações ligeiramente aumentadas no período inicial de maturação, reduzindo gradativamente no período subsequente, de modo a atingir valores próximos aos iniciais.

Para o gênero *Staphylococcus* spp., a população obtida ao 30º dia foi de 5,26 ±0,58. Nas produções T8 e T5 foi verificada a presença de *Staphylococcus* spp. ao 60º e 70º dia. Nas produções T12 e T14, a população foi detectada até o 90º dia, com uma população média de 3,56 ±0,15 log UFC/g, tendo reduzido durante a vida-de-prateleira em aproximadamente 2 ciclos log (**figura 21a**).

Para o patógeno inoculado às produções (*S. aureus*), foi observado ao 30º dia nas produções T5, T8, T12 e T14 uma população média de 4,60 ±0,89 log UFC/g. Na produção T8, privada de sais de cura, foi verificada a presença de *S. aureus* até o 60º dia, totalizando 2,20 log UFC/g em média. Nas demais produções, ao 90º dia a população média de *Staphylococcus aureus* foi de 2,98 ± 0,88 log.

Para a população de *Staphylococcus* spp. não foi verificada uma diferença estaticamente significativa entre as produções ($p>0,05$) durante o período de maturação, já a variação de *Staphylococcus aureus* para as quatro produções durante a maturação foi estatisticamente significativa ($p<0,05$). A produção T8 foi a que durante o período de maturação apresentou menor população do patógeno inoculado.

Tabela 21 – Média, desvio padrão e valores D de *Staphylococcus* spp e *Staphylococcus aureus* obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas *starter* (T5, T8, T12 e T14) e com a adição (T5, T12) ou não (T8, T14) de sais de cura.

Etapa	Tempo (dias)	Média das populações (log UFC/g)					
		StT5	StT8	StT12	StT14	Média ¹	DP
MP	0	3,33	3,45	4,84	4,06	3,92	0,69
	2	6,15	6,74	6,65	6,09	6,41	0,33
MT	10	6,09	5,55	6,09	6,00	5,93	0,26
	20	5,81	4,9	5,98	5,81	5,63	0,49
Média ²		6,02^a	5,73^a	6,24^a	5,97^a		
VP	30	5,13	4,51	5,54	5,84	5,26	0,58
	40	4,73	4,26	5,24	5,83	5,02	0,67
	50	3,57	3,65	5,22	5,69	4,53	1,08
	60	2,45	2,56	5,06	5,50	3,89	1,61
	70	2,21	nd	4,56	4,53	3,77	1,35
	80	Nd	nd	4,44	3,63	4,04	0,57
	90	Nd	nd	3,66	3,45	3,56	0,15
Média ³		3,42^a	3,81^a	4,82^b	4,92^b		
Valor D ⁴ (dias)		14	18	37	nc		
		SaT5	SaT8	SaT12	SaT14	Média ¹	DP
MP	0	2,44	2,15	2,82	2,26	2,42	0,29
Inóculo		5,63	5,73	6,77	6,18	6,08	0,52
MT	2	6,52	4,66	5,97	6,72	5,97	0,93
	10	5,70	4,67	5,32	6,25	5,49	0,66
	20	5,3	4,52	4,77	5,76	5,09	0,55
Média ²		5,84^{bc}	4,62^a	5,35^b	6,24^c		
VP	30	5,26	3,43	4,37	5,33	4,60	0,89
	40	5,13	3,18	3,99	4,61	4,23	0,84
	50	4,96	2,87	3,25	3,85	3,73	0,91
	60	4,88	2,22	2,95	3,65	3,43	1,13
	70	4,62	nd	2,49	3,55	3,55	1,07
	80	4,63	nd	2,20	3,41	3,41	1,22
	90	3,69	nd	2,00	3,25	2,98	0,88
Média ³		4,74^c	2,93^a	3,00^a	3,95^b		
Valor D ⁴ (dias)		69	21	21	18		

MP- matéria-prima; MT- maturação; VP- vida-de-prateleira; St- *Staphylococcus* spp.; Sa- *Staphylococcus aureus*; DP- desvio padrão; nd- não detectado; nc- valor D não calculado. 1- média entre os tratamentos estudados (T5, T7, T8 e T10); 2- médias das múltiplas análises correspondentes ao período de maturação de cada tratamento (dias 2, 10 e 20); 3- médias das múltiplas análises correspondentes à vida-de-prateleira de cada tratamento (30° ao 90°dia); 4- Cálculo do valor D correspondente aos resultados obtidos durante a maturação e vida-de-prateleira. Letras coincidentes indicam valores estatisticamente iguais (p>0,05).

A variação na população de *Staphylococcus* spp. e de *S. aureus* foi estatisticamente distinta ($p < 0,05$) para os diferentes produtos durante a vida-de-prateleira. Observou-se que as produções T5 e T8, diferiram daquelas adicionadas de *Lactobacillus sake* 2a (T12 e T14) quanto a presença de *Staphylococcus* spp. Estas diferenças foram visíveis graficamente, pois populações de *Staphylococcus* spp. foram obtidas nas produções controle ao 60° (T8) e 70° dia (T5), enquanto que, nas produções adicionadas de *L. sake* 2a a população estendeu-se até o 90° dia.

Para *S. aureus*, observou-se médias microbianas durante a vida-de-prateleira para as produções T8 e T12, as quais não se diferenciaram apesar de terem sido verificadas populações ao 60° e 90° dia. A produção T5 (adicionada de sais de cura) foi a que durante a vida-de-prateleira menos reduziu quanto à presença de *S. aureus*, enquanto que, a produção T14 (**tabela 21** e **figura 21b**) mostrou-se intermediária em relação às produções T12 e T5.

Observa-se na **tabela 21** que os valores D para a população de *Staphylococcus* spp. diferenciaram-se expressivamente durante o período de estudo. Nas produções T5, T8 e T12 a redução de 1 ciclo log foi a cada 14, 18 e 37 dias. A redução de 1 ciclo log de *S. aureus* foi a cada 69, 21, 21 e 18 dias. Assim, para este microrganismo foi observado que apenas a produção controle T5 adicionada de sais de cura diferenciou grandemente das demais. O fato das populações do gênero *Staphylococcus* spp. terem sido distintas nas formulações com *L. sake* estão relacionados aos valores de pH obtidos, uma vez que, nas produções com *L. sake* 2a não reduziu conforme observado para as outras produções estudadas.

Nas produções adicionadas de *Lactobacillus sake* (T12 e T14) a redução de pH esperado e necessário na caracterização físico-química do produto não ocorreu, tendo sido verificados ao 2° dia valores próximos a 6,30, enquanto que ao 20° dia estes valores foram de 6,40 (T12) e de 6,20 (T14). Conforme mostra a **tabela 22** e **figura 22**, a atividade de água durante a vida-de-prateleira manteve-se constante em $0,81 \pm 0,01$, sendo considerado significativamente igual ($p > 0,05$) para as produções T5, T8 e T12. Para o pH, ao 30° dia observou-se valores de $5,55 \pm 0,73$, enquanto que, ao 90° dia estes valores reduziram para $5,59 \pm 0,42$. Nota-se na **figura 22a** que, as produções adicionadas de *Lactobacillus sake* tiveram valores de pH superiores ao esperado e com pequenas variações durante a vida-de-prateleira. Desta forma, os

produtos cárneos obtidos com a adição de *L. sake 2a* não podem ser considerados salames, uma vez que não foi atingido o pH próprio deste tipo de produto.

Tabela 22 – Valores médios de pH e de atividade de água obtidos durante o período de maturação e vida-de-prateleira de salames tipo Italiano processados com a adição de culturas *starter* (T5, T8, T12 e T14) e com a adição (T5, T12) ou não (T8, T14) de sais de cura.

Etapa	Tempo (dias)	Valores médios obtidos					
		pHT5	pHT8	pHT12	pHT14	Média ¹	DP
MP	0	6,74	6,76	6,17	5,79	6,37	0,47
	2	5,56	5,39	6,3	6,21	5,87	0,46
MT	10	5,24	4,80	6,48	6,22	5,69	0,80
	20	4,93	4,8	6,5	6,08	5,58	0,84
Média ²		5,24^a	5,00^a	6,42^b	6,17^b		
VP	30	5,19	4,73	6,37	5,89	5,55	0,73
	40	5,01	4,58	6,33	5,89	5,45	0,80
	50	5,00	4,96	6,25	5,90	5,53	0,65
	60	5,06	5,01	6,41	6,08	5,64	0,71
	70	5,17	5,17	6,20	5,89	5,61	0,52
VP	80	5,35	5,15	6,01	5,88	5,60	0,41
	90	5,29	5,18	6,08	5,79	5,59	0,42
Média ³		5,15^b	4,97^a	6,24^d	5,90^c		
		AaT5	AaT8	AaT12	AaT14	Média ¹	DP
MP	0	0,96	0,96	0,96	0,95	0,96	0,00
	2	0,94	0,94	0,94	0,94	0,94	0,00
MT	10	0,91	0,91	0,91	0,91	0,91	0,00
	20	0,84	0,83	0,84	0,84	0,84	0,01
Média ²		0,90^a	0,90^a	0,90^a	0,90^a		
VP	30	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82	0,00
	40	0,82	0,81	0,82	0,81	0,82	0,01
	50	0,82	0,81	0,81	0,81	0,81	0,01
	60	0,82	0,81	0,82	0,81	0,82	0,01
	70	0,82	0,81	0,82	0,81	0,82	0,01
VP	80	0,82	0,81	0,81	0,81	0,81	0,01
	90	0,82	0,81	0,81	0,81	0,81	0,01
Média ³		0,82^a	0,82^a	0,82^a	0,81^a		

MP- matéria-prima; MT- maturação; VP- vida-de-prateleira; Aa- atividade de água; DP- desvio padrão. 1- média entre os tratamentos estudados (T5, T7, T8 e T10); 2- médias das múltiplas análises correspondentes ao período de maturação de cada tratamento (dias 2, 10 e 20); 3- médias das múltiplas análises correspondentes à vida-de-prateleira de cada tratamento (30º ao 90º dia). Letras coincidentes indicam valores estatisticamente iguais (p>0,05).

Assim sendo, apesar das formulações adicionadas de *L. sake* no presente estudo terem resultado em uma inibição estatisticamente significativa ($p < 0,05$) de bactérias lácticas (possíveis deteriorantes); durante a maturação do salame são incapazes de garantir o pH adequado para o embutido além de inibirem bactérias autóctones da carne. Foi observado um efeito sinérgico aditivo entre a presença de *L. sake* e de sais de cura na inibição de microrganismos, particularmente de *S. aureus*. Entretanto, esse efeito sinérgico não é suficiente para garantir a segurança microbiológica do produto elaborado.

MARTINIS & FRANCO (1998) isolaram e caracterizaram *Lactobacillus sake* 2a de lingüiça frescal e testaram essa bactéria com relação à inibição de *Listeria monocytogenes* na própria lingüiça. Os autores concluíram que *L. monocytogenes* foi inibida nas produções adicionadas de *Lactobacillus sake* 2a, bem como os compostos inibidores produzido por *L. sake* 2a permaneceram estáveis durante a estocagem. Verificaram que, com a presença de *L. sake*, durante as primeiras três semanas de incubação não houve variação quanto às contagens de *L. monocytogenes* nas amostras com e sem nitrito. Após a quarta semana, a contagem de *L. monocytogenes* das amostras sem nitrito foi cerca de cem vezes maior do que das amostras com nitrito. Os autores sugeriram que o composto inibidor produzido pelo microrganismo é semelhante a uma bacteriocina e, ainda, que *L. sake* 2a pode ser utilizado em produtos cárneos com o intuito de inibir a multiplicação de *L. monocytogenes*.

LUONGO *et al.* (2001) estudaram o efeito de uma linhagem de *Lactobacillus sakei* e das características sensoriais de um embutido fermentado, típico de sul da Itália (“soppressata molisana”). Analisaram a formação de compostos voláteis durante a maturação através de análise por GC-MS e verificaram a influência de culturas *starter* na formação dos mesmos, bem como sua capacidade de acidificação. Os autores sugeriram que a utilização de culturas *starter* pode influenciar na formação de aromas característicos e na qualidade microbiológica do embutido “soppressata molisana”.

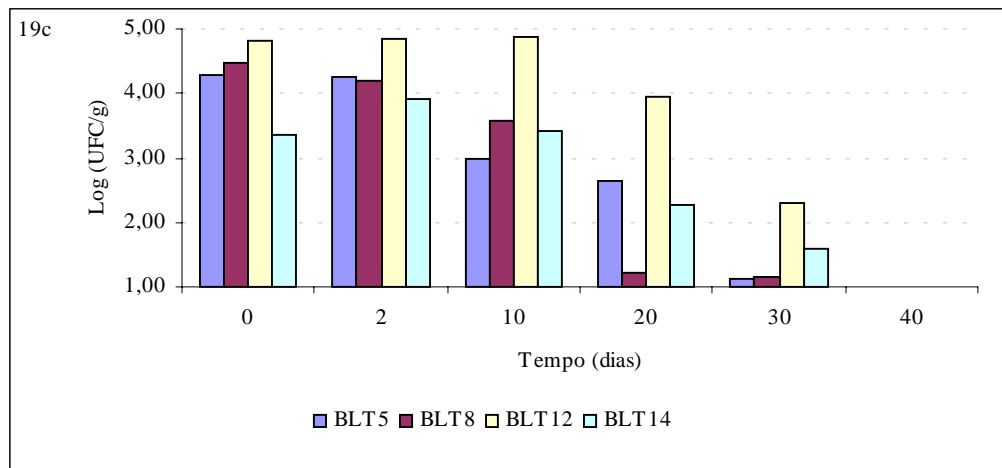
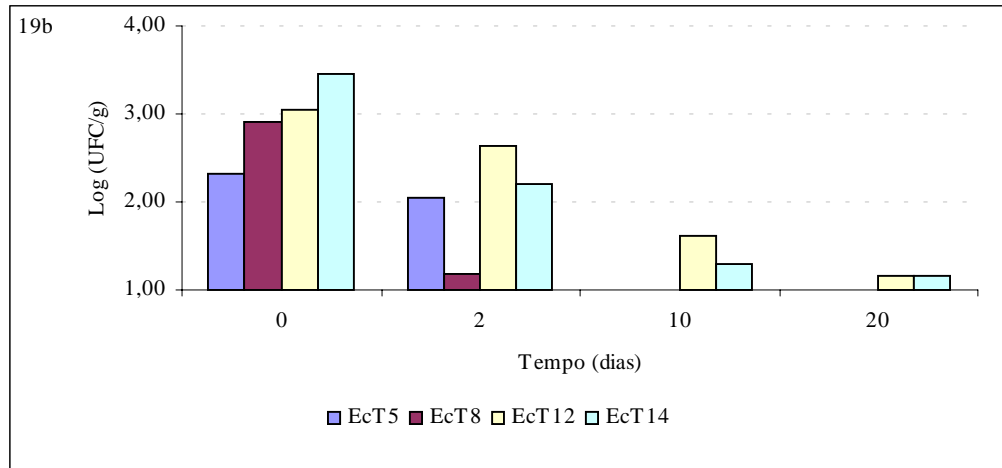
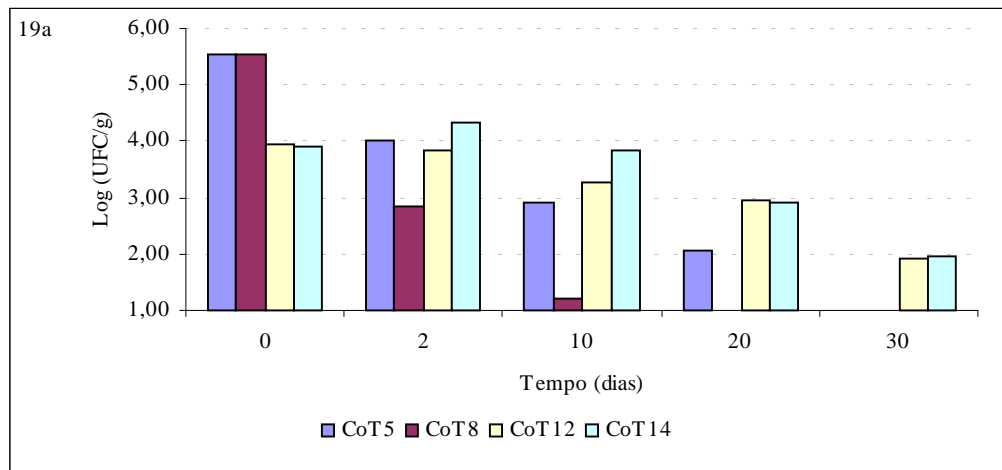


Figura 19 – Populações médias de coliformes, de *Escherichia coli* e de bolores e leveduras em salames tipo Italiano com (T5) e sem adição de sais de cura (T8), com *Lactobacillus sake* 2a (T12 e T14) durante a maturação e vida-de-prateleira.

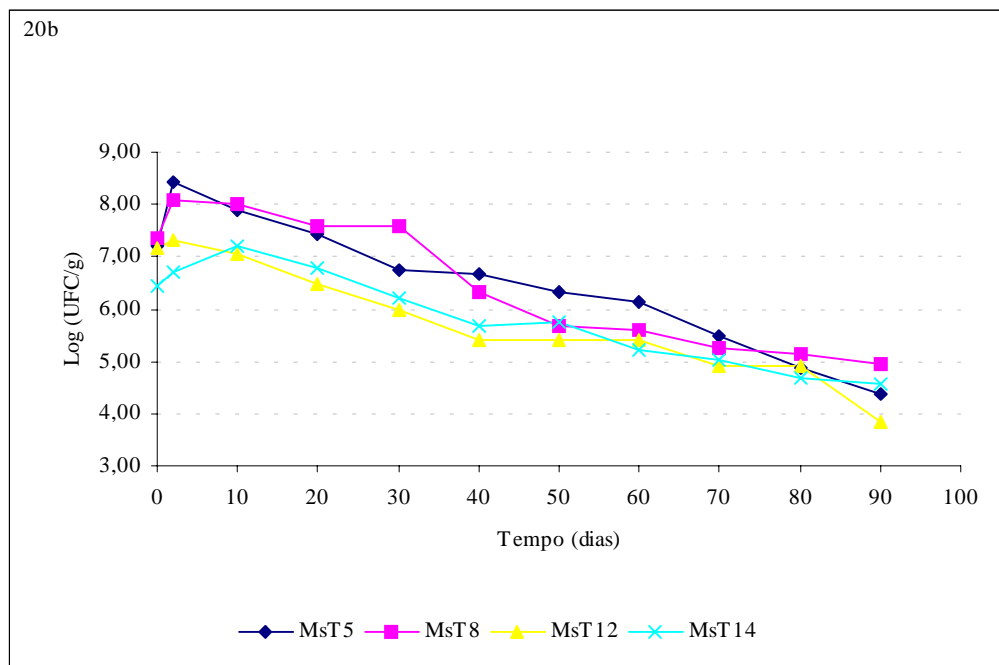
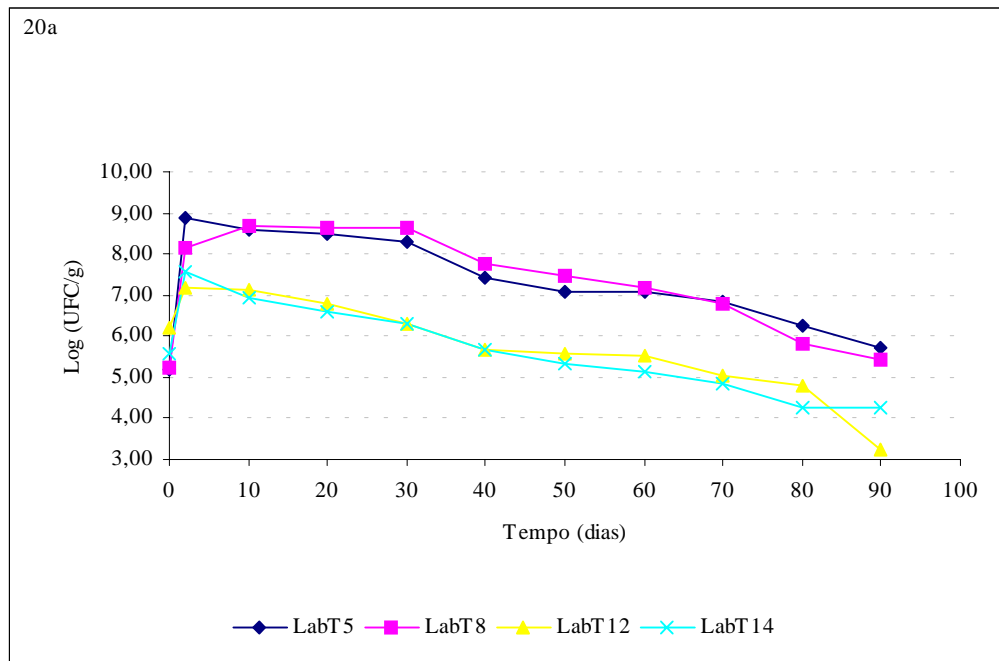


Figura 20 – Populações médias de bactérias lácticas e de microrganismos mesófilos em salames tipo Italiano com (T5) e sem adição de sais de cura (T8), com *Lactobacillus sake* 2a (T12 e T14) durante a maturação e vida-de-prateleira.

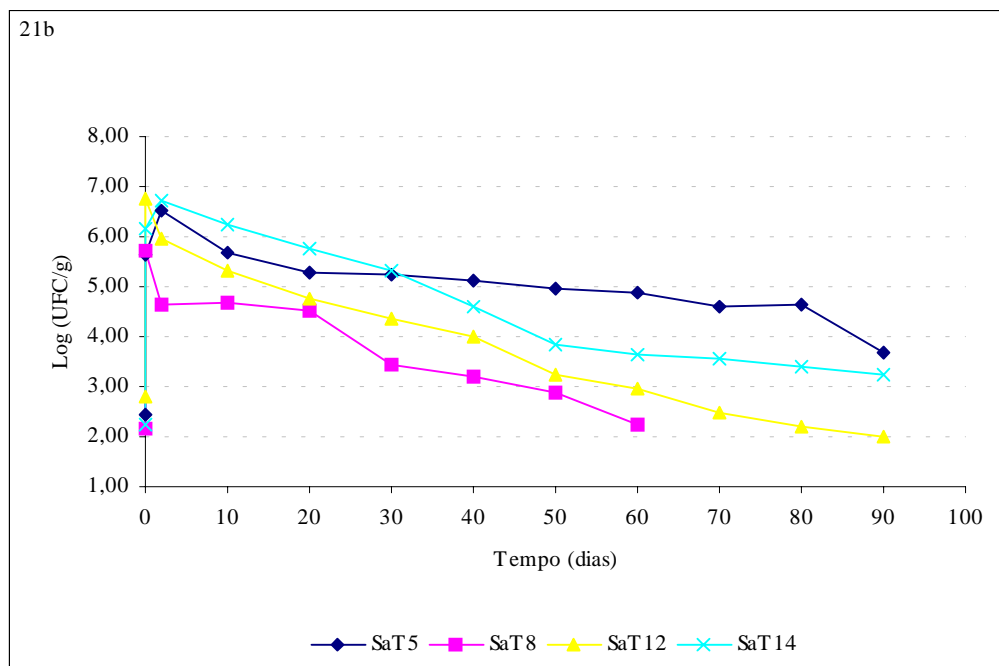
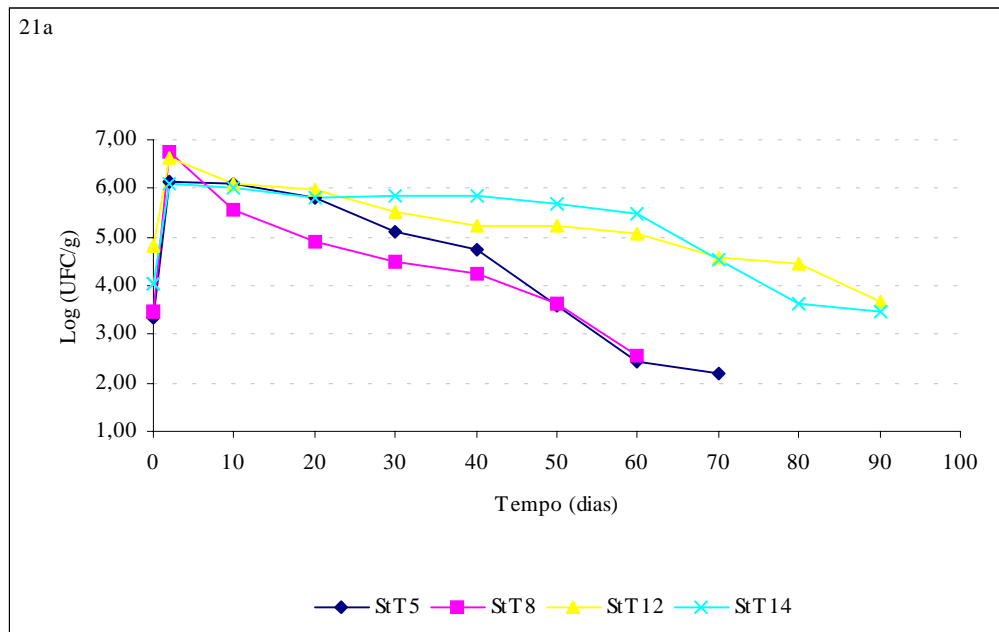


Figura 21 – Populações médias de *Staphylococcus* spp. e de *Staphylococcus aureus** em salames tipo Italiano com (T5) e sem adição de sais de cura (T8), com *Lactobacillus sake* 2a (T12 e T14) durante a maturação e vida-de-prateleira.

* inóculo de 6.08 ± 0.52 log UFC/g

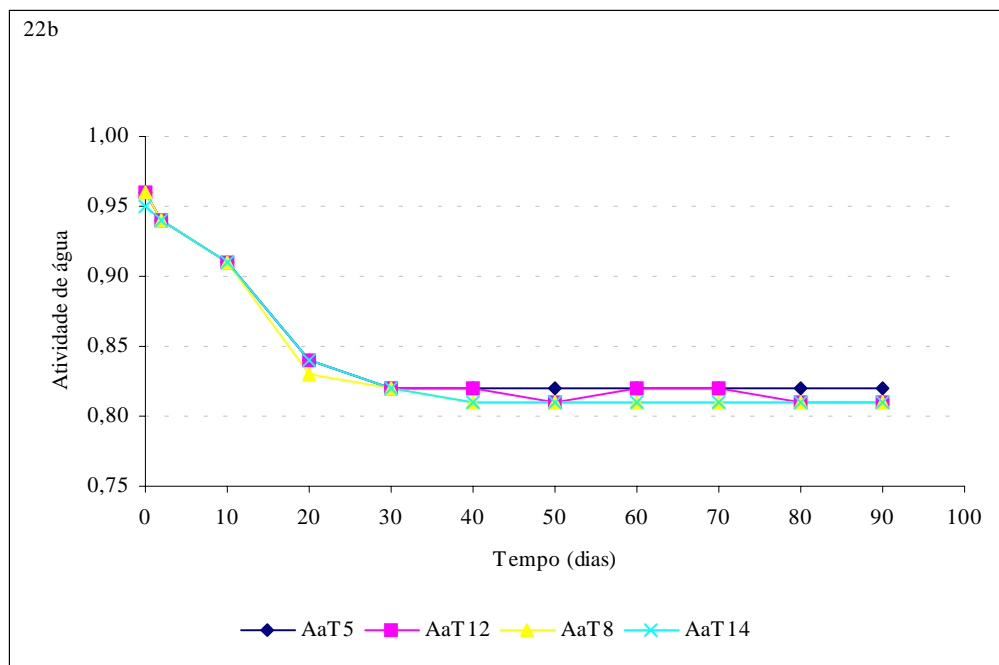
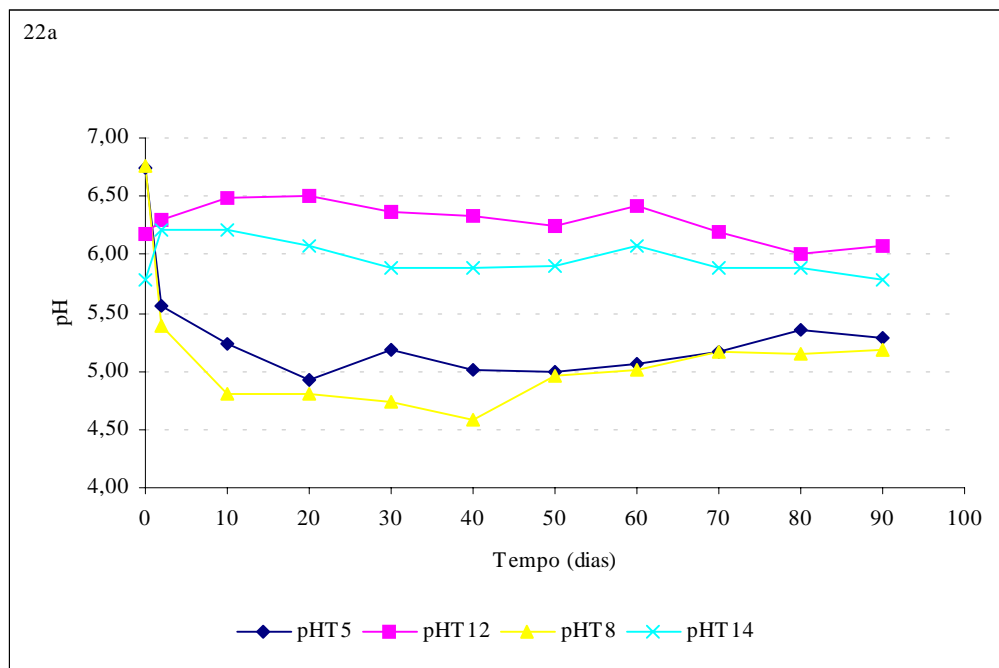


Figura 22 – Valores médios de pH e de atividade de água em salames tipo Italiano com (T5) e sem adição de sais de cura (T8), com *Lactobacillus sake* 2a (T12 e T14) durante a maturação e vida-de-prateleira.

V – DISCUSSÃO

Apesar do salame tipo Italiano ser um produto com características físico-químicas próprias e não oferecer condições propícias à multiplicação de microrganismos, se houver uma grande contaminação da matéria-prima por *S. aureus*, este patógeno permanecerá no produto durante o período correspondente à sua comercialização conforme observado em nossos experimentos.

BRYAN (1988) e ALTEKRUSE *et al.* (1997) relataram que apesar do contínuo progresso quanto à qualidade e segurança dos alimentos, vários surtos de doenças transmitidas por alimentos têm sido relatadas na literatura. Os fatores desencadeadores mais freqüente são a contaminação cruzada, resfriamento e o armazenamento impróprios, a manutenção de alimentos à temperatura ambiente por longo período, a contaminação com ingredientes e/ou alimentos crus e as más condições de higiene por pessoas que manipulam os alimentos. HOLZAPFEL (1998) relata que a deterioração microbiana resulta diretamente da multiplicação e atividade metabólica de bactérias adaptadas ao alimento. Bactérias Gram-positivas são mais resistente do que algumas Gram-negativas, especialmente com relação ao valor do pH, redução da atividade de água, cura e processamento térmico. De fato, com observou-se no presente trabalho que o microrganismo, *Staphylococcus aureus* coagulase-positiva, inoculado à massa cárnea pode tornar-se um problema desde que as boas práticas de processamento não sejam adotadas.

TERRA (1993b) relatou que uma das importantes funções das culturas *starter* adicionadas ao alimento é promover a inibição de *S. aureus*, *Salmonella*, *Clostridium botulinum* e, ainda, de enterobactérias. Segundo o autor, *S. aureus* é inibido quando se utilizam culturas *starter* que promovem a redução do pH. Resultados contrários foram observados nos experimentos deste trabalho, sendo constatado que, independentemente da adição de culturas *starter*, houve a permanência do patógeno após e período de maturação e o período de possível comercialização. TERRA (1993b) cita que *S. aureus* não se desenvolve em um meio com pH inferior a 5,3, sendo este o pH específico do salame tipo Italiano o que, no entanto, em nossos experimentos o pH não impediu eliminação do referido patógeno.

A carne fresca possui atividade de água por volta de 0,99, propiciando a multiplicação de microrganismos patogênicos e deteriorantes. O processamento de

salame tipo Italiano associado à temperatura de maturação (27 e 20°C) promoveram a desidratação dos tecidos em nossos experimentos, assim como a inibição da multiplicação microbiana. A redução da atividade de água, devido ao processo empregado, é de fundamental importância para a manutenção da qualidade do salame tipo Italiano. Segundo RÖDEL *et al.* (1990), dentre os fatores associados à estabilidade dos produtos desidratados, a atividade de água é um dos parâmetros que pode ser mensurado com precisão, permitindo assim o controle da vida-de-prateleira dos produtos. Ao ter sido adicionado *S. aureus* à mistura cárnea, independentemente da desidratação, adição ou não de sais de cura e a redução do pH, observou-se a presença do patógeno durante o período que corresponderia à vida-de-prateleira.

LEITÃO (1988), SABATINI *et al.* (1998), SENIGALIA (1999) e LARA (2000) relataram que a atividade de água é influenciada simultaneamente pela penetração do sal e perda de água. Segundo PINTO (1998), as condições de processamento de produtos com baixa atividade de água selecionam a microbiota, e no produto final permanecem apenas bactérias da família *Micrococcaceae*, com predominância de estafilococos coagulase negativos que eventualmente funcionam como culturas *starter*. No presente trabalho, verificou-se que tanto estafilococos coagulase-negativo quanto positivo permaneceram durante e a maturação e vida-de-prateleira.

De acordo com LÜCKE (2000), a adição de microrganismos desejáveis em carnes pode ser por diferentes finalidades como, por exemplo, aperfeiçoar a segurança do produto (inativação de patógenos), aperfeiçoar a estabilidade (aumento da vida-de-prateleira pela inibição de microrganismos indesejáveis), promover diversidade (modificação da matéria-prima para a obtenção de novas propriedades sensoriais) e também ocasionar benefícios à saúde (através dos efeitos positivos na microbiota intestinal). A fermentação de alimentos utilizando culturas promove a variabilidade de produtos, sendo tanto de interesse para a indústria quanto para o consumidor.

A ação benéfica de culturas *starter* em produtos cárneos não se restringe somente à redução de pH, mas também se dá na obtenção de características próprias (cor, odor e sabor), bem como na redução do teor residual de nitrito. Esta característica deve-se ao fato desses microrganismos terem capacidade de converter

nitrato em nitrito. Um outro fator importante é que muitas bactérias lácticas sintetizam a enzima catalase, produzida por grande número de bactérias contaminantes da carne, que decompõe o peróxido de hidrogênio (TERRA, 1993a e b; ROÇA, 1997; JAY, 2000). De acordo do HUGA & MONFORT (1997), muitos lactobacilos são capazes de formar peróxido de hidrogênio, composto que contribui para a descoloração do pigmento heme nitroso.

De TONI (1994) relatou que *Lactobacillus plantarum*, caracteriza-se pela atuação mais intensa na decomposição do nitrito no início de maturação, enquanto que *Pediococcus pentosaceus* atua de forma prolongada. A utilização de bactérias lácticas favorece a decomposição do nitrito, promovendo a redução de pH no produto. O autor recomenda a adição de 10^6 UFC de *L. plantarum*/grama de massa cárnea, inóculo que propicia menor concentração de nitrito residual e valor de pH, ou seja, 2,88 ppm e 5,45, respectivamente, o que representa vantagem quanto à qualidade microbiológica e à possibilidade de impedir a formação de estruturas carcinogênicas.

ANJOS *et al.* (1996) e ROÇA, (1997) citaram que em países desenvolvidos, como os Estados Unidos, sais de cura sofrem restrições para sua utilização, sendo usado para curar carnes e o máximo de adição permitido é de 156 ppm de nitrito de sódio. Na preparação do bacon, a quantidade de nitrito residual foi reduzida para 120 ppm, juntamente com a adição de 550 ppm de ascorbato ou eritorbato de sódio, visando acelerar a transformação do ácido nitroso em óxido nítrico. No Brasil a concentração de nitrito permitida relaciona-se a um limite residual máximo de 30 ppm (ENGETECNO, 2002). O nitrito consumido em quantidades excessivas é tóxico. Uma dose única maior do que 15-20 mg/Kg de peso vivo pode ser letal. Entretanto, o nível máximo permitido em produtos cárneos é de 20 a 40 vezes abaixo da dose letal. A utilização de nitrito em níveis recomendados não constitui nenhum problema de toxicidade, porém, admite-se que a concentração mínima de nitrito necessária para inibir *C. botulinum* seja de 150 ppm.

LEISTNER (1995a); ANJOS *et al.* (1996); SANZ *et al.* (1997); MORITA *et al.* (1998) e JAY (2000) citaram que o nitrito, produto originado pela redução de nitrato realizada por algumas bactérias, é utilizado na tecnologia de carne desde tempos remotos. A partir de então, vários atributos têm sido relacionados a esse composto, os quais justificam seu uso na industrialização da carne. A adição de

nitrito como sal de cura é importante, especialmente no início do processo de fermentação, para que ocorra a estabilidade microbiológica. O nitrito no embutido ocasionará a redução de enterobactérias e psicrotróficos em cerca de 1 a 2 ciclos log em decorrência da redução do pH. Segundo SANZ *et al.* (1997), a permanência de enterobactérias e psicrotróficos diminui lentamente, ocasionando a redução dos perigos relacionados ao produto.

O nitrito é responsável pelo desenvolvimento de características próprias nas carnes curadas (cor, odor e sabor), havendo indícios de que 50mg/Kg de nitrito são suficientes para produzir as características desejáveis. Em contrapartida aos atributos citados, nitrato e nitrito podem apresentar efeitos indesejáveis à saúde dos consumidores. A intoxicação por nitrito provoca vasodilatação, relaxamento dos músculos lisos, metahemoglobinemia, rubose das extremidades da face, desconforto gastrointestinal, cefaléia, cianose, vômito e colapso, portanto, fica claro que é prudente minimizar a quantidade de nitrito utilizada na cura da carne. Os compostos N-nitroso são conhecidos como potentes cancerígenos em várias espécies, inclusive em primatas, e a exposição humana se dá através da inalação, ingestão de nitrosamina pré-formada ou pela nitrosamina endógena (LIEPE, 1983; De TONI, 1994; ANJOS *et al.*, 1996, JABLONSK & BOHACH, 2001).

Devido aos perigos ocasionados pela adição de sais de cura seria de grande interesse a retirada dos mesmos através da incorporação de linhagens microbianas, justamente pelo fato das culturas *starter* contribuírem no aprimoramento tecnológico. Inúmeros esforços estão sendo feitos nesse sentido. No entanto, ainda não foi possível uma garantia eficaz de qualidade quanto às inúmeras características físicas, químicas, microbiológicas e, principalmente, sensoriais que garantem a qualidade e a aceitação do produto pelo consumidor.

No presente trabalho, um dos objetivos era a retirada dos sais de cura, substituindo-se por linhagens *starter* afim de garantir a qualidade dos salame tipo Italiano nos quesitos microbiológicos e sensoriais. De acordo com os resultados obtidos, nas produções sem os sais de cura (**figuras 9 e 13**), a redução dos microrganismos contaminantes, principalmente do patógeno inoculado, foi mais acentuada em relação aos tratamentos adicionados dos mesmos. No entanto, a

eliminação de *S. aureus* não foi suficiente, sendo este microrganismo detectado após o período de maturação com uma população consideravelmente crítica ao produto.

Um outro problema não resolvido quando retirado os sais de cura foi a obtenção de uma coloração apropriada. Desta forma, mesmo que o produto tivesse atingido todas as suas características físico-químicas e microbiológicas permitidas, o consumidor o rejeitaria devido à coloração. ROÇA (1997) e JAY (2000) comentaram que investigações estão sendo realizadas para encontrar um substituto para o nitrito, porém ainda não foi encontrada nenhuma substância igual ou superior a este aditivo para o desenvolvimento de cor e a ação antimicrobiana. CASSENS (1995) cita que uma combinação do ascorbato, alfa-tocoferol e nitrito; irradiação (com ou sem nitrito); microrganismos produtores de ácido láctico (com ou sem nitrito); sorbato de potássio com baixas concentrações de nitrito; hipofosfito de sódio (com ou sem nitrito); e vários ésteres fumaratos foram testados. Subseqüentemente estudos mostraram que problemas de sabor foram associados aos sorbatos e ésteres fumaratos. Portanto, uma alternativa eficiente para a substituição do nitrito não foi identificada.

A presença de *S. aureus* após o período de maturação dos salames tipo Italiano é bastante preocupante principalmente pelo fato deste produto não passar por processos térmicos durante sua produção, bem como quando consumido. Segundo HOLZAPFEL (1998), esta contaminação pode ser procedente da matéria-prima, ou decorrente de contaminação pós-processamento. Neste estudo, para melhor avaliação do comportamento do patógeno em salame tipo Italiano foi inoculado *S. aureus* e acompanhado durante a vida útil do produto.

De acordo com NAGEL (1998), na hora da compra de um embutido a preferência do consumidor dependerá da impressão que a cor do produto lhe cause. A cor é uma característica de qualidade em vários tipos de produtos. Segundo o autor, as propriedades objetivamente importantes para um produto cárneo de primeira qualidade serão os ingredientes, o frescor e o sabor. Entretanto, para o consumidor a aparência, especialmente a cor, também é decisiva.

MORITA *et al.* (1998) analisaram salame sem a adição de nitrato ou nitrito, preparado com a inoculação de *S. xylosum* como cultura *starter*. Segundo os autores, esta linhagem bacteriana converte a mioglobina em um derivado denominado

mioglobina vermelha na ausência de sais de cura. Os autores concluíram que a metamioglobina foi convertida para mioglobina vermelha pela linhagem *S. xylosus* FAX-1. O derivado foi um complexo de óxido nítrico (NO) de mioglobina Fe(II), sendo esta reação reversível pelo efeito do pH. Também concluíram que o complexo de óxido nítrico de mioglobina Fe(II), pigmento de carne curada, foi formado em salame sem a adição de nitrato e nitrito, adicionando-se para isto *S. xylosus* FAX-1. O fato das bactérias promoverem a formação de coloração vermelha em carnes sem a adição de nitrito foi relatado, entretanto, não foi verificado e confirmado durante os referidos experimentos. A existência de bactérias produzindo NO gera importantes evidências sobre a possível formação de nitrosomioglobina em carne sem a adição de nitrato ou nitrito.

BALDUÍNO *et al.* (1999) avaliaram algumas associações entre *Lactobacillus*, *Pediococcus* e *Enterococcus*, para aplicação como cultura *starter* em produtos cárneos, visando a obtenção de cultura láctica mista ou pura com a fermentação homoláctica, melhor produção de ácido, alta viabilidade celular, tolerância ao sais de NaCl e NaNO₂, capacidade de redução de nitrito de sódio e atividade antimicrobiana contra patógenos como *S. aureus*, *Salmonella* spp. e *E. coli* enteropatogênica. Observaram que a fermentação homoláctica com melhor produção de ácido láctico (4,61%) e alta viabilidade celular (3×10^5 UFC/mL) foi obtida pelas culturas de *L. curvatus*, *L. plantarum*, *P. acidilactici* e *E. faecium*. As culturas mistas selecionadas apresentaram alta viabilidade (aprox. 10^{14} UFC/mL), mesmo em elevadas concentrações de NaCl e NaNO₂. Em ensaios “*in vitro*”, observou-se que o caldo BHI fermentado apresentou 99% de redução do nitrito inicial. As culturas lácticas mistas selecionadas inibiram *S. aureus*, *Salmonella* spp. e *E. coli* em ágar BHI. Em lingüiça frescal de frango observou-se a redução da população de *S. aureus* e coliformes totais em relação às produções consideradas controles, melhorando a qualidade sanitária do produto. Os resultados apresentados evidenciam a possibilidade de aplicações de culturas mistas como culturas *starter* em produtos cárneos.

ARKOUDELOS *et al.* (1998) avaliaram algumas características físico-químicas e microbiológicas de um embutido fermentado grego comercializado na região metropolitana de Atenas (Grécia). O estudo foi direcionado a *Staphylococcus* spp., sendo dado como um importante gênero presente na fermentação de carne,

particularmente a espécie *S. carnosus*. *S. carnosus* foi isolado e identificado em vários embutidos fermentados analisados. As cepas mais freqüentemente isoladas foram de *S. carnosus* (17%), *S. hominis* (8%) e *S. xylosus* (7%) como os mais freqüentes nos embutidos gregos. Os resultados encontrados ainda sugerem que estas espécies estão amplamente distribuídas nos embutidos fermentados.

COFFEY *et al.* (1998); SAMELIS *et al.* (1998) e COPPOLA *et al.* (2000) estudaram variações nas características físico-químicas e microbiológicas ocorridas durante a fermentação e maturação de salame. Foram analisados o comportamento de linhagens de *Lactococcus lactis* DPC4268 e DPC4275, *Lactobacillus sake* ($>10^8$ UFC/g), *Micrococaceae* e leveduras em relação à inibição de bactérias Gram-negativas e microrganismos formadores de esporos. As linhagens *starter* DPC4268 e DPC4275 foram comparadas às linhagens *Lactobacillus sake* e *Staphylococcus carnosus*, utilizadas comercialmente na produção de embutidos. Os salames produzidos com lactococos e lactobacilos exibiram pH entre 5,10 a 5,22 e atividade de água abaixo de 0,90, que é considerada favorável à conservação e estabilidade higiênica do produto. Também foram observados nos produtos boa qualidade sensorial e colorimétrica. Analisando os produtos em relação à bactérias formadores de esporos (*Clostridium* sulfito- redutor) e Gram- positivos (*Staphylococcus* coagulase- positivo), observaram reduções de suas populações durante todo o processo, enquanto que a população de leveduras não diminuiu significativamente durante o período de maturação, permanecendo em cerca de 10^5 UFC/g.

SAMELIS *et al.* (1998) observaram que *Staphylococcus xylosus* dominavam as populações de *Micrococaceae* (proporção entre 10^5 a 10^6 UFC/g), enquanto que COPPOLA *et al.* (2000) indicaram que os lactobacilos (aumentado de $3,0 \times 10^3$ para $5,5 \times 10^8$ UFC/g) constituíam a microbiota predominante, tanto na superfície quanto no interior, do produto elaborado ao término do período de maturação.

Resultados semelhantes foram encontrados nos produtos elaborados no presente trabalho. No entanto, foram utilizadas culturas *starter* comerciais mistas compostas de *Pediococcus pentosaceus*, *Staphylococcus xylosus* e *Staphylococcus carnosus*, assim como uma cultura pura (*Lactobacillus sake* 2a). Verificou-se, durante o período de maturação, uma população média destes microrganismos em todas as produções variando de 10^7 a 10^8 UFC/g. Diferentemente do que é citado na

literatura, os resultados obtidos de pH para as produções adicionadas de *L. sake* 2a durante o período de maturação e vida-de-prateleira desclassificam os produtos elaborados como salame tipo Italiano.

OSEI ABUNYEWA *et al.* (2000) citaram que a carne é um meio ideal para a multiplicação de muitos tipos de bactérias e fungos, por exemplo, *Yarrowia lipolytica*, podendo causar deterioração, especialmente quando as populações bacterianas são inibidas. Verificou-se durante o estudo dos salames produzidos no presente trabalho que, à medida que o produto foi maturando, a população de bolores e leveduras foi reduzindo-se, fato este também relacionado à competição da microbiota natural ou igualmente adicionada aos produtos. A população obtida de bolores e leveduras foi relacionada à contaminação ocorrida durante a etapa de maturação no interior da câmara, semelhantemente ao descrito da ENGETECNO (2002) como sendo consequência natural do processo tecnológico de fabricação.

A aplicação de linhagens bacteriocinogênicas como culturas *starter* em produtos fermentados pode promover uma ferramenta adicional para a prevenção da germinação de patógenos em alimentos, assim como, aumentar a competitividade dos organismos *starter* com a microbiota contaminante (HUGAS & MONFORT, 1997).

VI- CONCLUSÕES

Baseado nos resultados obtidos no presente trabalho, pode-se concluir que:

- *Staphylococcus aureus* sobreviveu durante todo o período de maturação em salames tipo Italiano preparados com carne artificialmente contaminada, permanecendo viável no produto até o final de sua vida-de-prateleira ou pelo menos boa parte. A população média obtida para os salames com 2 e 3 tipos de culturas *starter* e com sais de cura (T6 e T7) foi de 3,70 e 3,80 log UFC/g ao 90° dia, enquanto que os produtos sem sais de cura (T9 e T10) a população foi de 2,68 e 2,25 log UFC ao 40° dia, respectivamente.
- A redução média de *S. aureus* durante o período de maturação nos salames adicionados de 2 e 3 tipos de culturas com e sem sais de cura foi 0,19 (T6) e 0,38 (T7); 2,13 (T9) e 2,18 (T10) ciclos log. Para os produtos adicionados de *L. sake* a redução correspondeu respectivamente a 2,0 (T12) e 0,42 (T14) ciclos log.
- Durante a vida-de-prateleira a redução média de *S. aureus* ao 90° dia, em relação ao inóculo, correspondeu a 1,94 (T5), 1,84 (T6), 1,85 (T7), 4,77 (T12) e 2,93 (T14). Para a produção T8 a redução foi de 3,51 ciclos log tendo sido detectado ao 60° dia, para os salames T9 e T10 a redução correspondeu a 2,93 e 3,58 ciclos log tendo sido detectado a presença de *S. aureus* até o 40° dia.
- Os embutidos adicionados de *Lactobacillus sake* 2a não puderam ser classificados como salame tipo Italiano, uma vez que o pH de 5,3, que caracteriza o produto não foi atingido, o contrário do que ocorreu com as demais produções, independentemente da adição ou não de culturas *starter*, para as quais os valores de pH e de atividade de água reduziram durante o período de maturação.
- Em virtude da coloração não característica, não é recomendável a produção de salames sem a adição dos sais de cura.
- Ao término do período de maturação, *E. coli* e coliformes deixaram de ser detectados nos salames tipo Italiano, independentemente da presença ou não de culturas *starter* e de sais de cura. Para os salames adicionados de *L. sake* 2a com e sem sais de cura (T11, T12, T13 e T14) representantes do grupo dos

coliformes foram detectados ao 30º dia, com uma população média 1,41, 1,91, 2,64 e 1,94 log UFC/g, possivelmente devido ao valor de pH que permaneceu por volta de 6,17 a 6,43 durante a maturação e 5,89 a 6,26 durante a vida-de-prateleira.

- Foram verificados a presença de bolores e leveduras durante a vida-de-prateleira sendo relacionados à contaminações de superfície ocorrido durante o processo de secagem na câmara de maturação. A população detectada ao 40º dia variou de 1,11 a 2,72 log UFC/g, exceto para o salame T9 cuja população somente foi detectado ao 20º dia.
- A adição de sais de cura dificultou a inibição microbiana, particularmente de *S. aureus* artificialmente inoculado, exceto no caso das formulações com *L. sake* 2a, para as quais observou-se um efeito sinérgico aditivo entre a referida cultura e os sais de cura, no entanto, não garantindo a segurança do produto.
- Os dados obtidos no presente trabalho não permitiram concluir sobre a diferenças entre resultados obtidos para a adição ou não de culturas *starter*, bem como a sua composição, sobre a inibição dos diferentes microrganismos estudados.
- Apesar do salame ser um produto que não apresenta condições favoráveis para a multiplicação de microrganismos, se a contaminação inicial da matéria-prima com *Staphylococcus aureus* for alta, esse microrganismo continuará presente no produto durante toda a maturação com populações elevadas.
- O salame tipo Italiano é um produto com boa aceitação, sendo considerado seguro quanto à presença de microrganismos esporulados. No entanto, pode haver a permanência de *Staphylococcus aureus*, representando um perigo à saúde do consumidor.

VII – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

- ACTON, J.C., DICK, R.L. Improved characteristics for dry, fermented turkey sausage. **Food Prod. Dev.**, Chicago, v.9, n.8, p.91-94, 1975.
- ADAMS, M.R., HALL, C. Growth inhibition of foodborne pathogens by lactic and acetic acids and their mixtures. **Int. J. Food Sci. Technol.**, Oxford, v.23, n.3, p.297-302, 1988.
- ADAMS, M.R., MOSS, M.O. **Microbiología de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1997. p.259-264.
- AGUILERA, J.M., CHIRIFE, J. Combined methods for the preservation of foods in Latin America and the CYTED-D Project. **J. Food Eng.**, Oxford, v.22, n.1/4, p.433-444, 1994.
- ALTEKRUSE, S.F., COHEM, M.L., SWERDLOW, D.L. Emerging foodborne diseases. **Emerg. Infect. Dis.**, Atlanta, v.3, p.285-293, 1997.
- ANJOS, A.C., RIBEIRO, P. O nitrito em carnes curadas: vantagens, desvantagens e recursos tecnológicos para reduzir os níveis de nitrosaminas no bacon. **Hig. Aliment.**, São Paulo, v.8, n.29, p.8-13, 1996.
- ARKOUDELOS, J.S, NYCHAS, G.J.E., SAMARAS, F. The occurrence of staphylococci on Greek fermented sausages. **Fleischwertsch**, Frankfurt, v.4, p.25-28, 1998.
- BACUS, J. Update: meat fermentation. **Food Technol.**, Chicago, v.38, n.6, p.59-69, 1984a.
- BACUS, J. **Utilization of microorganisms in meat processing**: a handbook for meat plant operators. Letchworth: Research Studies Press, 1984b. 173p.

* De acordo com a NBR602/2000 preconizada pela ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). As abreviaturas dos títulos dos periódicos seguem o CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE SOURCE INDEX (CASSI), 2001.

- BACUS, J.N, BROWN, W.L. (1981) Use of microbial cultures: meat products. *Food Technol.* 35, 74-78. Apud: OSEI ABUNYEWA, A.A., LAING, E., HUGO, A., VILJOEN, B.C. The population change of yeast in commercial salami. **Food Microbiol.**, Amsterdam, v.17, p.429-438, 2000.
- BACUS. J. **Utilization of microrganisms in meat processing.** Letchworth: Research Studies Press, 1986. 176p.
- BALABAN, N., RASSOLY, A. Staphylococcal enterotoxins. **Int. J. Food Microbiol.**, Amsterdam, v.61, p.1-10, 2000.
- BALDUINO, R., OLIVEIRA, A.S., HAULY, M.C.O. Cultura láctica mista com potencial de aplicação como cultura iniciadora em produtos cárneos. **Cienc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.19, n.3, 1999. Disponível em: <http://www.scielo.br/cgi-bin/wxis.exe/iah/>. Acesso em 10 de maio de 2002.
- BANZATTO, D.A., KRONKA, S.D. **Experimentação Agrícola.** 3 ed. Jaboticabal: FUNEP, 1995. 247p.
- BASSAN, I. Aplicação da cultura microbiana na Indústria da carne. **Rev. Nac. Carne**, São Paulo, v. n/1, p. 41-44,1985.
- BERGDOLL, M.S. Staphylococcal intoxications. In: RIEMANN, H., BRYAN, F.L. **Foodborne infection and intoxications.** 2.ed. New York: Academic Press, 1979. p.443-494.
- BERGDOLL, M.S. *Staphylococcus aureus*. In: DOYLE, M.P. **Foodborne bacterial pathogens.** New York: Marcel Dekker, 1989. p.463-520.
- BÖHME, H.M., MELLETT, F.D., DICKS, L.M.T., BASSON, D.S. Production of salami from ostrich meat with strains of *Lactobacillus sake*, *Lactobacillus curvatus* and *Micrococcus* sp. **Meat Sci.**, Amsterdam, v.44, n.3, p.173-180, 1996.
- BORCH, E., KANT-MUERMANS, M.L., BLIXT, Y. Bacterial spoilage of meet and cured meat products. **Int. J. Food Microbiol.**, Amsterdam, v.33, n.1, p.103-120, 1996.

- BOURGEOIS, C. M., LARPENT, J. P. **Microbiologia Alimentaria**. Madri: Ed. Acríbia- Zaragoza, 1995. p. 271-279; 309-320.
- BROWN, M.H., ed. **Meat microbiology**. New York, London: Applied Science, 1982. p.529.
- BRYAN, F.L. Risks of practices, procedures and processes that lead to outbreaks of food borne diseases. **J. Food Prot.**, Des Moines, v.51, p.663-673, 1988.
- BRYAN, F.L., BARTLESON, C.A., CHRISTOPHERSON, N. Hazard analysis, in reference to *Bacillus cereus*, of boiled and fried in Cantonese-style restaurants. **J. Food Prot.**, Des Moines, v.44, n.7, p.500-512, 1984.
- BUCKENHÜSKES, H.J. (1994). Bacterial starter cultures for fermented sausage. *Meat Focus Inter.*, 12, 497-500. Apud: HUGAS, M., MONFORT, J.M. Bacterial starter for meat fermentation. **Food Chem.**, Oxford, v.59, n.4, p.547-554, 1997.
- BUSANI, S.F.B. Culturas “starters” em carne. In: SILVA, R.Z.M. **Aplicação da biotecnologia em produtos cárneos**. Campinas: ITAL, 1990. p.85-102.
- CAPLICE, E., FITZGERALD, G.F. Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. **Int. J. Food Microbiol.**, Amsterdam, v.50, p.131-149, 1999.
- CASSENS, R.G. Use of sodium nitrite in cured meats in the USA. **Food Technology**, Chicago, v.49, n.7, p.72-115, 1995.
- CASTRO, L.C., LUCHESE, R.H., MARTINS, J.F. Efeito do uso da cepa *Penicillium nalgiovense* na qualidade de salames. **Cienc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.20, n.1, 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br/cgi-bin/wxis.exe/iah/>. Acesso em 10 de maio de 2002.
- CAVENAGHI, A.D. **Uso de culturas starter na fabricação do salame tipo italiano**. São Paulo, 1999. 151p. (Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP).

- 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**, São Paulo, v.23, n.263, p.44-48, 1999.
- CHEFTEL, J. C. **Química de los Alimentos**. Madri: Ed. Acríbia - Zaragoza. 1993. 140 p.
- COFFEY, A., RYAN, M., ROSS, R.P., HILL, C., ARENDT, E., SCHWARZ, G. Use of a broad-host-range bacteriocin-producing *Lactococcus lactis* transconjugant as an alternative starter for salami manufacture. **Int. J. Food Microbiol.**, Amsterdam, v.43, p.231-235, 1998.
- CONVENTRY, J., HICKEY, M.W. Growth characteristics of meat *starter* cultures. **Meat Sci.**, Oxford, v.30, n.1, p.41-48, 1991.
- CONVENTRY, Y & HICKEY, M. W. **Growth Characteristics of Meat Starter Cultures**. Scientific Publishing, New York, 1991. p.30-48.
- COPPOLA, S., MAURIELLO, G., APONTE, M., MOSCHETTI, VILLANI, F. Microbial succession during ripening of Naples-type salami, a southern Italian fermented sausage. **Int. J. Food Microbiol.**, Amsterdam, v.56, p.321-329, 2000.
- DABÉS, A.C., SANTOS, W.L.M., PEREIRA, E.M. Atividade antimicrobiana de bactérias lácticas isoladas de produtos cárneos frente a *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v.53, n.1, 2001. Disponível em: <http://www.scielo.br/cgi-bin/wxis.exe/iah/>. Acesso em 10 de maio de 2002.
- DALY, C., DAVIS, R. The biotechnonology of lactic acid bacteria with emphasis on applications in food safety and human health. **Agric. Food Sci. Finl.**, Jokioinen, v.7, n.2, p.251-265, 1998.
- DAVIDSON, P.M. Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. In: DOYLE, M.P., BEUCHAT, L.R., MONTVILLE, T.J., eds. **Food microbiology: Fundamentals and frontiers**. Washington: ASM Press, 2001. p.593-627.

- De TONI, C.H., De TONI Jr., C., SANT'ANNA, E.S., OGLIARI, P.J. Uso de bactérias lácticas e seus efeitos nas variações do pH de nitrito durante a maturação do salame tipo italiano. **Bol. Soc. Bras. Cienc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.28, n.1, p.1-9, 1994.
- DELLAGLIO, S., CASIRAGHI, E., POMPEI, C. Chemical, physical and sensory attributes for characterization of an italian dry-cured sausage. **Meat Sci.**, Oxford, v.42, n.1, p.25-35, 1996.
- DILLON, V.M. Yeast and moulds associated with meat and meat products. p.85-117. In DAVIES, A., and BOARD, R. (ed.). **The microbiology of meat and poultry**. Blackie Academic & Professional, London, 1998.
- EBURNE, R.C., PRENTICE, G. Modified-atmosphere-packed ready-to-cook and ready-to eat meat products. In: MAN, C.M.D., JONES, A.A.. eds. **Shelf-life evaluation of foods**. New York: Chapman & Hall, 1996. p.156-178.
- ECKENER, K.F. Bacteriocins and food applications. **Dairy Food Environ. Sanit.**, Ames, v.12, n.4, p.204-209, 1992.
- ENGETECNO. Regulamento técnico de identidade e qualidade do salame tipo Italiano. Disponível em: http://www.engetecno.com.br/salame_italiano.htm. Acesso em 09 de maio de 2002.
- FARKAS, J. Physical methods of food preservation. In: DOYLE, M.P., BEUCHAT, L.R., MONTVILLE, T.J., eds. **Food microbiology: Fundamentals and frontiers**. Washington: ASM Press, 1997. p.497-519.
- FENNEMA, R. O. **Química de los Alimentos**. Madri: Ed. Acríbia - Zaragoza, 1993. p. 3-80.
- FERNÁNDEZ-SALGUERO, J. Conservation de productos cárneos por aplicación de fatores combinados: produtos espanõles de humedade intermedia y alta. **Rev. Esp. Cienc. Tecnol. Aliment.**, Valencia, v.35, n.3, p.233-246, 1995.
- FLORES, J., TOLDRÁ, F. Curing. In: MACRAE, R., ROBINSON, R.K., SADLER, M.J. **Encyclopedia of Food Science, Food Technology and Nutrition**. London: Academic Press, 1993. p.1277-1282.

- FRANCO, D.G.M., LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996.182p.
- GARCIA de FERNANDO, G.D., NYCHAS, G.J.E., PECK, M.W., ORDÓNEZ, J.A. Growth/survival of psychrotrophic and pathogens on meat packaged under modified atmospheres. **Int. J. Food Microbiol.**, Amsterdam, v.28, n.2, p.221-231, 1995.
- GEISEN, R., LÜCKE, F.K., KRÖCKEL, L. *Starter* and protective cultures for meat and meat products. **Fleischwirtschaft**, Frankfurt, v.72, p.894-898, 1992.
- GEOFFREY, A. N. **Composição química e valor nutritivo da carne**. Obra coletiva. Campinas: Ed. UNICAMP, 1984, 12 p.
- GINEGIORGIS, C.A., RIEMAN, H., SADLER, W.W. Production of enterotoxin-B in cured meats. **J. Food Sci.**, Chicago, v.34, p.62-68, 1969.
- GLEES, A. **Salame e produtos similares**. Obra coletiva, Campinas: Ed. UNICAMP, 1980. 42p.
- GOMES, F.P. **Curso de estatística experimental**. 5 ed., Nobel, São Paulo, 1973. 458p.
- GOMIDE, L.A.M., GARCIA, A.M., PEREIRA, A.S.D., MENDONÇA, R.C.S. Avaliação físico-química e microbiológica de carnes de frango mecanicamente separada em embutidos fermentados. **Rev. Cienc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.17, n.2, p.125-131, 1997.
- GONZÁLES-FANDOS, M.E., SIERRA, M., GARCIA-LÓPEZ, M.L., GARCÍA FERNÁNDEZ, M.C., OTERO, A. The influence of manufacturing and drying conditions on the survival and toxinogenesis of *Staphylococcus aureus* in two Spanish dry sausages (chorizo and salsichón). **Meat Sci.**, Oxford, v.52, p.411-419, 1999.
- GRAU, F.H. Role of pH, lactase, and anaerobiosis in controlling the growth of some fermentative Gram-negative bacteria on beef. **Appl. Environ. Microbiol.**, Washington, v.42, n.6, p.1043-1050, 1981.

- GRAY, J.J., GOMAA, E.A., BUCKLEY, D.J. Oxidative quality and shelf life of meats. **Meat Sci.**, Oxford, v.43, suppl., p.S111-S123, 1996.
- HAMMES, W.P., HERTEL, C. New developments in meat *starter* cultures. **Meat Sci.**, London, v.49, p.S125-S138, 1998.
- HARRIS, L.J., DAESCHEL, M.A., STILES, M.E., KLAENHAMMER, T.R. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against *Listeria monocytogenes*. **J. Food Prot.**, Des Moines, v.52, n.6, p.384-387, 1989.
- HELGESEN, H., NAES, T. Selection of dry fermented lamb sausages for consumer testing. **Food Qual. Prefer.**, Harlow, v.6, n.2, p.109-120, 1995.
- HOCKING, A.D., CHISTIAN, J.H.B. Microbial ecology interactions in the processing of foods. In: BARBOSA-CÁRNOVAS, G.V., WELTI-CHANES, J., eds. **Food preservation by moisture control: fundamentals and applications**. Lancaster: Technomic, 1995. p.553-574. (International Symposium on the Properties of Water Universidad de las Américas, 2, Puebla, 1994).
- HOLZAPFEL, W.H. The gram-positive bacteria associated with meat and meat products. In: DAVIES, A., BOARD, R., eds. **The microbiology of meat and poultry**. London: New York: Blackie Academic, 1998. p.35-84.
- HUGAS, M., MONFORT, J.Ma. Bacterial starter for meat fermentation. **Food Chem.**, Oxford, v.59, n.4, p.547-554, 1997.
- HUST, R.E. **Sausage and processed meats manufacturing**. Ann Arbor: AMI Center for Continuing Education, 1977. 153p.
- HWANG, J.W., ANGLES, S., KINSMAN, D.M., HALL, K.N. Preparation of fermented sausages from underutilized fish and meat sources. **J. Food Process. Preserv.**, Trumbull, v.13, n.3, p.187-200, 1989.
- INSTITUTO ADOLF LUTZ- **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3.ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985. 533p.

- JABLONSKI, L.M., BOHACH, G.A. *Staphylococcus aureus*. In: DOYLE, M.P., BEUCHAT, L.R., MONTVILLE, T.J., eds. **Food microbiology: Fundamentals and frontiers**. Washington: ASM Press, 2001. p.411-434.
- JAY, J.M. **Modern food microbiology**. Gaithersburg, Maryland: Aspen Publication, 2000. 679p.
- JESSEN, B. (1995) *Starter culture for meat fermentations*. In: OSEI ABUNYEWA, A.A., LAING, E., HUGO, A., VILJOEN, B.C. The population change of yeast in commercial salami. **Food Microbiol.**, Amsterdam, v.17, p.429-438, 2000.
- KLETTNER, P.G., PÖLLEIN, H., OTT, G. Processing of old sheep in the meat industry. **Fleischwirtschaft**, Frankfurt, v.69, n.12, p.1810-1812, 1835, 1989.
- KUNZ, B. **Cultivo de microorganismos para la producción de alimentos: obtención, aplicaciones e investigation**. Zaragoza: Acribia, 1986.
- LABUZA, T.P. **Shelf life dating of foods**. Westport: Food and Nutrition Press, 1982. 500p.
- LARA, J.A.F. **Desenvolvimento e produção de toxina B pelo *Clostridium botulinum* durante o processamento do charque**. Londrina, 2000. (Dissertação de Mestrado – Departamento de Tecnologia de Alimentos e Medicamentos- Universidade Estadual de Londrina - UEL).
- LEISTNER, L. **Food design by hurdle technology and HACCP**. Kulmbach: Adalbert Raps Foundation, 1994. 62p. GRAU
- LEISTNER, L. Microbiologia durante a fermentação e maturação de produtos crus. In: SILVA, R.Z.M. **Aplicação da biotecnologia em produtos cárneos**. Campinas: ITAL, 1990. p.127-150.
- LEISTNER, L. Stable and safe fermented sausages world-wide. In: CAMPBELL-PLATT, G., COOK, P.E., eds. **Fermented meats**. London: Blackie Academic & Professional, 1995a. p.160-174.

- LEISTNER, L. Use of hurdle technology in food processing: recent advances. In: BARBOSA-CÁRNOVAS, G.V., WELTI-CHANES, J.D. **Food preservation by moisture control: fundamentals and applications**. Lancaster: Technomic, 1995b. p.377-396.
- LEITÃO, M.F. Microbiologia de Alimentos. In: ROITMAN, I., TRAVASSOS, L.R., AZEVEDO, J.L. (Eds.). **Tratado de Microbiologia**. v.1 São Paulo: Manole, 1988.
- LIEPE, H.-U. Starter culture in meat production. In: REHN, H.I., REED, G. **Biotechnology**. Florida: Verlagchemie, 1983. p.409-417.
- LIEPE, H-U. (1981) Starter culture in meat production. *Biotechnology* 5, 399-424. Apud: OSEI ABUNYEWA, A.A., LAING, E., HUGO, A., VILJOEN, B.C. The population change of yeast in commercial salami. **Food Microbiol.**, Amsterdam, v.17, p.429-438, 2000.
- LÜCKE, F.K. Fermented meat products. **Food Res. Int.**, Oxford, v.27, n.3, p.299-307, 1994.
- LÜCKE, F.K. Fermented sausages. In: WOOD, B.J.B. **Microbiology of food of fermented foods**. 2.ed. London: Blackie Academic and Professional, 1998. v.2, p.441-483.
- LÜCKE, F.K. Utilization of microbes to process and preserve meat. **Meat Sci.**, Oxford, n.56, p.105-115, 2000.
- LUONGO, D., GIAGNACOVO, B., FIUME, I., COPPOLA, R. Volatile compounds in 'soppressata molisana' style salami fermented by *Lactobacillus sakei*. **Ital. J. Food Sci.**, Pinerolo, v.13, n.1, p.19-28, 2001.
- MANDIL, A., MORAIS, V.A.D., PEREIRA, M.L. *Staphylococcus aureus* em queijo "minas". **Rev. Cienc. Technol. Aliment.**, Campinas, v.2, p.233-241, 1982.
- MARCY, J.A., KRAFT, A.A., OLSON, D.G., WALKER, H.W., HOTCHKISS, D.K. Fate of *Staphylococcus aureus* in reduced sodium fermented sausage. **J. Food Sci.**, Chicago, v.50, p.316-320, 1985.

- MARTINIS, E.C.P., FRANCO, B.D.G.M. Inhibition of *Listeria monocytogenes* in a pork product by a *Lactobacillus sake* strain. **Int. J. Food Microbiol.**, Amsterdam, v.1/2, n.42, p.119-126, 1998.
- MEAD, P.S., SLUTSKER, V.D., MCCAIG, L.F., BRESEE, J.S. SHAPIRO, C., GRIFFIN, P.M. TAUXE, R.V. Food-Related Illness and Deatin the United State. **Emerg. Infect. Dis.**, Atlanta, v.5, n.5, Sept.-Oct., p.1-37, 1999.
- MELTON, S.L. Methodology for following lipid oxidation in muscle foods. **Food Technol.**, Chicago, v.37, n.7, p.105-111, 1983.
- MONTEL, M.C., REITZ, J., TALON, R., BERDAGUÉ, J.L., ROUSSET-AKRIM, S. Biochemical activies of *Micrococcaceae* and their effects on the aromatic profiles and odours of a dry sausage model. **Food Microbiol.**, London, v.13, n.6, p.489-499, 1996.
- MORITA, H., SAKATA, R., NAGATA, Y. Nitric oxid complex of iron (II) myoglobin converted from metmyoglobin by *Staphylococcus xylosus*. **J. Food Sci.**, Chicago, v.63, p.352-355, 1998.
- NAGEL, W.S., AMBIEL, C. Cor e cura de salsichas: formação, estabilidade e padronização. **Rev. Nac. Carne**, São Paulo, n.253, p.28, 1998.
- NOTTINGHAM, P.M. Microbiology of carcass meats. Apud: BROWN, N.H. **Meat Microbiol.**, v.49, n.12, p.1003-1009, 1986.
- OSEI ABUNYEWA, A.A., LAING, E., HUGO, A., VILJOEN, B.C. The population change of yeast in commercial salami. **Food Microbiol.**, Amsterdam, v.17, p.429-438, 2000.
- PEARSON, A.M., DUTSON, T.R., eds. **Quality attributes and their measurement in meat, poultry and fish products**. London: Blackie Academic, 1994. 505p. (Advances in meat research series, v.9).
- PEARSON, A.M., GILLETT, T.A. **Processed meats**. 3.ed. New York: Chapman & Hall, 1996. 448p.
- PEARSON, A.M., TAUBER, F.W. **Processed meats**. 2.ed. New York: Van Nostrand Reinhold, 1984. 427p.

- PENNA, T.C.V. Esterilização térmica. Conceitos básicos da cinética de morte microbiana. **Rev. Bras.Cienc. Farm.**, v.33, supl. 1, p.1-5, 1997.
- PINTO, M.F., PONSANO, E.H.G., FRANCO, B.D.G.M., SHIMOKOMAKI, M. Controle de *Staphylococcus aureus* em charques (Jerked beef) por culturas iniciadoras. **Cienc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.18, n.2, p.200-204, 1998.
- PIRONE, G., PIETRA, L.L., DIAFERIA, C., MANGANELLI, E. Selection of *Micrococcaceae* strains to be used as *starters* in naples-type salami. **Ind. Conserve**, Palma, v.71, n.1, p.3-7, 1996.
- RACCACH, M., BAKER, R.C. Lactic acid bacteria as an antispoilage and safety factor in cooked mechanically deboned poultry meat. **J. Food Prot.**, Des Moines, v.14, n.9, p.703-705, 1978.
- RHEE, K.S. Chemistry of meat flavor. In: MIN, D.B., SMOUSE, T.H. **Flavor chemistry of lipid foods**. Champaign: AOCS, 1989. 462p.
- RICKE, S.C., DÍAZ, I.Z., KEETON, J. Fermented meat, poultry, and fish food. In DOYLE, M.P., BEUCHAT, L.R., MONTVILLE, T.J. eds. **Food microbiology: fundamentals and frontiers**. Washington: ASM Press, 2001. p.681-700.
- ROÇA, R.O. **Tecnologia da carne e produtos derivados**. Botucatu, 1997. 190p. (Disciplina - Tecnologia de Produtos de Origem animal - Faculdade de Ciências Agronômicas - UNESP).
- RÖDEL, W., SCHEUR, R., WAGNER, H. Nuevo metodo para la determination de la actividade agua en produtos cárnicos. **Fleischwirtschaft**, Frankfurt, v.2, p.36-41, 1990.
- ROSA, C.M, FRANCO, B.D.G.M., MONTVILLE, T.J., CHIKINDAS, M.L. Purification and mechanistic action of a bacteriocin by a Brazilian sausage isolate, *Lactobacillus sake* 2a. **J. Food Safety**, v.22, n.1, p.39-54, 2002.
- SABADINI, E., CARVALHO JR, B.C., SOBRAL, P.J.A. *et al.* Mass transfer and diffusion coefficient determination in wet and dry salting of meat. **Drying Technology**, Monticello, v.16, n.9/10, p.2095-2115, 1998.

- SAMELIS, J., METAXOULOPOLOS, J., VLASSI, M., PAPPA, A. Stability and safety of traditional Greek salami – a microbiological ecology study. **Int. J. Food Microbiol.**, Amsterdam, v.44, p.69-82, 1998.
- SAMESHIMA, T., MAGOME, C., TAKESHITA, K., ARIHARA, K., ITOH, M., KONDO, Y. Effect of intestinal *Lactobacillus starter* cultures on the behavior of *Staphylococcus aureus* in fermented sausage. **Int. J. Food Microbiol.**, Amsterdam, v.41, p.1-7, 1998.
- SANZ, Y., VILA, R., TOLDRA, F., NIETO, P., FLORES, J. Effect of nitrate and nitrite curing salts on microbiol changes and sensory quality of rapid ripened sausages. **Int. J. Food Microbiol.**, Amsterdam, v.37, p.225-229, 1997.
- SCHEUSNER, D.L., HARMON, L.G. Growth and enterotoxin production by various strains *Staphylococcus aureus* in selected foods. **J. Food Sci.**, Chicago, v.38, p.474-476, 1973.
- SCHILLINGER, U., GEISEN, R., HOLZAPFEL, W.H. Potential of antagonistic microorganisms and bacteriocins for the biological preservation of foods. **Trends Food Sci. Technol.**, Oxford, v.7, p.158-164, 1996.
- SCHILLINGER, U., LÜCKE, F.K. Einsatz von milchsäurebakterien als schutzkulturien bei fleischerzeugnissen. *Fleischwirtschaft*, n.69, 879-882, 1989. Apud: LÜCKE, F.K. Utilization of microbes to process and preserve meat. **Meat Sci.**, Oxford, v.56, p.105-115, 2000.
- SENIGALIA, S.W.B. **Estudos da presença de *Staphylococcus aureus* em charque e sua capacidade de sobreviver durante o processamento.** Londrina, 1999. (Dissertação de Mestrado – Departamento de Tecnologia de Alimentos e Medicamentos- Universidade Estadual de Londrina - UEL).
- SILVA, J.A., BERAQUET, N.J. A microbiota contaminante da carcaça bovina. **Bol. Soc. Bras. Cienc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.32, n.2, p.157-166, 1998.

- SILVA, R.Z.M. Produtos fermentados acrescidos de proteína não cárnea e carne de frango mecanicamente separada. In: SILVA, R.Z.M. **Aplicação da biotecnologia em produtos cárneos**. Campinas: ITAL, 1990. p.151-178.
- SINGH, R.P. Scientific principles of shelf life evaluation. In: MAN, C.M.D., JONES, A.A. **Shelf-life evaluation of foods**. Suffolk: Chapman & Hall, 1996. p.3-26.
- SMITH, J.L., BUCHAMAN, R.L., PALUMBO, S.A. Effect of food environment on staphylococcal synthesis: a review. **J. Food Prot.**, Des Moines, v.46, p.545-555, 1983.
- SMITH, J.L., PALUMBO, S.A. Microorganisms as food additives. **J. Food Prot.**, Des Moines, v.44, p.936-955, 1981.
- SMITH, J.L., PALUMBO, S.A. Use of *starter* cultures in meats. **J. Food Prot.**, Des Moines, v.46, p.997-1006, 1983.
- SORENSEN, B.B., JAKOBSEN, M. The combined effects of environmental conditions related to meat fermentation on growth and production by the *starter* culture *Staphylococcus xylosum*. **Food Microbiol.**, London, v.13, n.3, p.265-274, 1996.
- SPERBERG, W. Influence of water activity on foodborne bacteria: a review. **J. Food Prot.**, Des Moines, v.46, n.2, p.142-150, 1983.
- STIEBING, A. **Produção de Krochurste**. Boletim Técnico da FAO, 1990. 17 p.
- TAKAHASHI, G. **Ingredientes e suas funções na fabricação de produtos cárneos**. Obra coletiva. Campinas: Ed. UNICAMP, 1980, 18 p.
- TERRA, N.N. **Apontamentos de tecnologia de carnes**. São Leopoldo: UNISINOS, 1998. 216p.
- TERRA, N.N. Princípio da fermentação de produtos cárneos (culturas “starter”) - Parte I. **Rev. Nac. Carne**, São Paulo, v.17, n.191, p.35-37, 1993a.
- TERRA, N.N. Princípio da fermentação de produtos cárneos (culturas “starter”) - Parte II. **Rev. Nac. Carne**, São Paulo, v.18, n.192, p.24-27, 1993b.

TROLLER, J.A. Effect of water activity on enterotoxin B production and growth of *Staphylococcus aureus*. **Appl. Environ. Microbiol.**, Washington, v.21, p.425-439, 1971.

TROLLER, J.A. **Sanitization in food processing**. New York: Academic Press, 1983. p.456.

VARNAS, A.H., EVANS, M.G. *Staphylococcus aureus* In: **Foodborne pathogens and illustrated text**, London, Mosby Year Book, 1991, cap.12,p.235-265.

YAMADA, E.A., BERAQUET, N.J. Embutido fermentado cozido. **Colet. Inst. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.23, n.1, p.19-27, 1993.

VII – ANEXOS

Anexo 1 – Resultados da análise de variância, em relação às populações microbianas e valores de pH e de atividade de água obtidos para as formulações T1, T2, T3 e T4 de salame tipo Italiano, com intervalos de confiança de 95%, durante o período de maturação.

Parâmetros	Fonte de variação	Soma dos quadrados	Grau de liberdade	Quadrado médio	F	P	Grupo homogêneo
Co	Entre grupos	2,598862	3	0,8662875	1,195	0,3298ns	T1 a
	Dentro dos grupos	20,30332	28	0,7251188			T3 a
	Total corrigido	22,902188	31				T4 a
Ec	Entre grupos	0,9194500	3	0,3064833	3,749	0,0414ns	T2 a
	Dentro dos grupos	0,9810500	12	0,0817542			T1 a
	Total corrigido	1,9005000	15				T4 ab
BL	Entre grupos	17,647873	3	5,8826243	24,373	0,0000n	T2 ab
	Dentro dos grupos	10,619575	44	0,2413540			T3 b
	Total corrigido	28,267448	47				T1 a
Lab	Entre grupos	1,8810833	3	0,6270278	5,304	0,0003n	T2 b
	Dentro dos grupos	5,2011167	44	0,1182072			T3 bc
	Total corrigido	7,0822000	47				T4 c
Ms	Entre grupos	0,0951833	3	0,317278	0,245	0,8643ns	T2 a
	Dentro dos grupos	5,6920833	44	0,1293655			T3 a
	Total corrigido	5,7872667	47				T1 a
St	Entre grupos	0,457550	3	0,1525167	0,459	0,7124ns	T4 a
	Dentro dos grupos	14,622017	44	0,3323186			T1 a
	Total corrigido	15,079567	47				T3 a
pH	Entre grupos	0,5673063	3	0,1891021	2,730	0,0552ns	T2 a
	Dentro dos grupos	3,0477417	44	0,0692669			T3 a
	Total corrigido	3,6150479	47				T4 a
Aa	Entre grupos	0,0013062	3	0,0004354	0,173	0,9143 ns	T1 a
	Dentro dos grupos	0,1100925	44	0,0025210			T2 a
	Total corrigido	0,1122312	47				T1 a
							T3 a
							T4 a

BL (bolores e leveduras), Co (coliformes totais), Ec (*Escherichia coli*), Lab (bactérias lácticas), Ms (mesófilos), Sa (*Staphylococcus aureus*), St (*Staphylococcus* spp.) e Aa (atividade de água).

* OBS: s = significativo ($p < 0,05$) / ns = não significativo ($p > 0,05$)

Para uma mesma linha, médias com uma mesma letra não diferem significativamente pelo teste aplicado.

Anexo 2 - Resultados da análise de variância, em relação às populações microbianas e valores de pH e de atividade de água obtidos para as formulações T1, T2, T3 e T4 de salame tipo Italiano, com intervalos de confiança de 95%, durante a vida-de-prateleira.

Parâmetros	Fonte de variação	Soma dos quadrados	Grau de liberdade	Quadrado médio	F	P	Grupo homogêneo
Lab	Entre grupos	44,534546	3	14,844849	23,166	0,0000s	T2 a
	Dentro dos grupos	69,207050	108	0,640806			T3b
	Total corrigido	113,74160	111				T4c
Ms	Entre grupos	12,934782	3	4,3115940	5,623	0,0013s	T1c
	Dentro dos grupos	82,808186	108	0,7667425			T3a
	Total corrigido	95,742968	111				T4ab
St	Entre grupos	2,07052	3	0,6901738	0,594	0,6204ns	T1b
	Dentro dos grupos	125,51776	108	1,16220,15			T3a
	Total corrigido	127,58829	111				T4a
pH	Entre grupos	1,0354884	3	0,3451628	5,570	0,0014s	T2a
	Dentro dos grupos	6,6929393	108	0,0619717			T1a
	Total corrigido	7,7284277	111				T4ab
Aa	Entre grupos	0,0051929	3	0,0017310	11,001	0,0000s	T2b
	Dentro dos grupos	0,0169929	108	0,0001573			T2a
	Total corrigido	0,221857	111				T1a
							T4b
							T3b

BL (bolores e leveduras), Co (coliformes totais), Ec (*Escherichia coli*), Lab (bactérias lácticas), Ms (mesófilos), Sa (*Staphylococcus aureus*), St (*Staphylococcus* spp.) e Aa (atividade de água).

* OBS: s = significativo (p<0,05)/ ns = não significativo (p>0,05)

Para uma mesma linha, médias com uma mesma letra não diferem significativamente pelo teste aplicado.

Anexo 3 – Resultados da análise de variância, em relação às populações microbianas e valores de pH e de atividade de água obtidos para as formulações T5, T6, T8 e T9 de salame tipo Italiano, com intervalos de confiança de 95%, durante o período de maturação.

Parâmetros	Fonte de variação	Soma dos quadrados	Grau de liberdade	Quadrado médio	F	P	Grupo homogêneo
Co	Entre grupos	7,647093	3	2,5490311	3,412	0,0276s	T8a
	Dentro dos grupos	26,895904	36	0,74771084			T6ab
	Total corrigido	34,54299	39				T5ab
Ec	Entre grupos	1,1401844	3	0,3800615	1,520	0,2310ns	T9b
	Dentro dos grupos	7,0009375	28	0,2500335			T8a
	Total corrigido	8,1411219	31				T9a
BL	Entre grupos	2,706473	3	0,9021576	1,067	0,3729ns	T6a
	Dentro dos grupos	37,212225	44	0,8457324			T8a
	Total corrigido	39,918698	47				T5a
Lab	Entre grupos	1,369756	3	0,4565854	1,740	0,1727ns	T9a
	Dentro dos grupos	11,544592	44	0,2623771			T8a
	Total corrigido	12,914348	47				T5a
Ms	Entre grupos	0,572873	3	0,1909576	0,577	0,6331ns	T6a
	Dentro dos grupos	14,558525	44	0,3308756			T9a
	Total corrigido	15,131398	47				T8a
St	Entre grupos	6,9134729	3	2,3044910	10,216	0,0000s	T5a
	Dentro dos grupos	9,9252083	44	0,2255729			T8b
	Total corrigido	16,838681	47				T6c
Sa	Entre grupos	22,852073	3	7,6173576	32,398	0,0000s	T5c
	Dentro dos grupos	10,345275	44	0,2351199			T9a
	Total corrigido	33,197348	47				T8ab
pH	Entre grupos	1,7917167	3	0,5972389	5,393	0,0030s	T5bc
	Dentro dos grupos	4,8723500	44	0,1107352			T9a
	Total corrigido	6,6640667	47				T8ab
Aa	Entre grupos	0,0020750	3	0,0006917	0,265	0,8506ns	T6b
	Dentro dos grupos	0,1150500	44	0,0026148			T5b
	Total corrigido	0,1171250	47				T9a
							T5a
							T8a
							T6a

BL (bolores e leveduras), Co (coliformes totais), Ec (*Escherichia coli*), Lab (bactérias lácticas), Ms (mesófilos), Sa (*Staphylococcus aureus*), St (*Staphylococcus* spp.) e Aa (atividade de água).

* OBS: s = significativo ($p < 0,05$) / ns = não significativo ($p > 0,05$)

Para uma mesma linha, médias com uma mesma letra não diferem significativamente pelo teste aplicado.

Anexo 4 – Resultados da análise de variância, em relação às populações microbianas e valores de pH e de atividade de água obtidos para as formulações T5, T6, T8 e T9 de salame tipo Italiano, com intervalos de confiança de 95%, durante sua vida-de-prateleira.

Parâmetros	Fonte de variação	Soma dos quadrados	Grau de liberdade	Quadrado médio	F	P	Grupo homogêneo
BL	Entre grupos	0,111667	2	0,0558333	7,852	0,0106s	T5a
	Dentro dos grupos	0,0640000	9	0,0071111			T8a
	Total corrigido	0,1756667	11				T6b
Lab	Entre grupos	13,52819	3	4,5093952	4,277	0,0068s	T9a
	Dentro dos grupos	113,87546	108	1,0544024			T6b
	Total corrigido	127,40364	111				T5b
Ms	Entre grupos	2,889581	3	0,9631937	1,295	0,2798ns	T8a
	Dentro dos grupos	80,298346	108	0,7435032			T5a
	Total corrigido	83,187928	111				T9a
St	Entre grupos	35,366573	3	11,788858	15,359	0,0000s	T6a
	Dentro dos grupos	68,313352	89	0,767566			T5a
	Total corrigido	103,67992	92				T8a
Sa	Entre grupos	94,635777	3	31,545259	78,826	0,0000s	T9a
	Dentro dos grupos	32,015122	80	0,400189			T8a
	Total corrigido	126,65090	83				T6b
pH	Entre grupos	3,3396455	3	1,1132152	18,616	0,0000s	T5c
	Dentro dos grupos	6,4583607	108	0,057996			T9a
	Total corrigido	9,7980063	111				T8a
Aa	Entre grupos	0,0080670	3	0,0026890	10,843	0,0000s	T6b
	Dentro dos grupos	0,0267821	108	0,0002480			T9a
	Total corrigido	0,0348491	111				T8b
							T5b
							T6b

BL (bolos e leveduras), Co (coliformes totais), Ec (*Escherichia coli*), Lab (bactérias lácticas), Ms (mesófilos), Sa (*Staphylococcus aureus*), St (*Staphylococcus spp.*) e Aa (atividade de água).

* OBS: s = significativo ($p < 0,05$) / ns = não significativo ($p > 0,05$)

Para uma mesma linha, médias com uma mesma letra não diferem significativamente pelo teste aplicado.

Anexo 5 – Resultados da análise de variância, em relação às populações microbianas e valores de pH e de atividade de água obtidos para as formulações T5, T7, T8 e T10 de salame tipo Italiano, com intervalos de confiança de 95%, durante o período de maturação.

Parâmetros	Fonte de variação	Soma dos quadrados	Grau de liberdade	Quadrado médio	F	P	Grupo homogêneo
Co	Entre grupos	3,945139	3	1,3150464	1,200	0,3237ns	T10a
	Dentro dos grupos	39,457358	36	1,0960377			T8a
	Total corrigido	43,402498	39				T7a
Ec	Entre grupos	0,6331232	3	0,2243744	0,677	0,5744ns	T5a
	Dentro dos grupos	7,9492875	28	0,3312203			T10a
	Total corrigido	8,6224107	31				T8a
BL	Entre grupos	5,828158	3	1,9427194	1,823	0,1569ns	T7a
	Dentro dos grupos	46,896233	44	1,0658235			T8a
	Total corrigido	52,724392	47				T5a
Lab	Entre grupos	0,2111083	3	0,0703694	0,946	0,4266ns	T10a
	Dentro dos grupos	3,2728833	44	0,0743837			T8a
	Total corrigido	3,4839917	47				T5a
Ms	Entre grupos	6,394873	3	2,1316243	6,741	0,0008s	T7a
	Dentro dos grupos	13,308798	44	0,3162256			T8b
	Total corrigido	20,308798	47				T5b
St	Entre grupos	4,1912729	3	1,3970910	6,281	0,0012s	T10b
	Dentro dos grupos	9,7872083	44	0,2224366			T10a
	Total corrigido	13,978481	47				T8a
Sa	Entre grupos	18,359990	3	6,1199965	21,540	0,0000s	T7b
	Dentro dos grupos	12,501292	44	0,2841203			T10a
	Total corrigido	30,861281	47				T8a
Aa	Entre grupos	0,0013063	3	0,0004354	0,162	0,9214ns	T5b
	Dentro dos grupos	0,1182750	44	0,0026881			T7a
	Total corrigido	0,1195812	47				T5a
pH	Entre grupos	0,5553229	3	0,1851076	0,909	0,4444ns	T8a
	Dentro dos grupos	8,9600250	44	0,2036369			T10a
	Total corrigido	9,5153479	47				T5a
							T7a

BL (bolores e leveduras), Co (coliformes totais), Ec (*Escherichia coli*), Lab (bactérias lácticas), Ms (mesófilos), Sa (*Staphylococcus aureus*), St (*Staphylococcus* spp.) e Aa (atividade de água).

* OBS: s = significativo ($p < 0,05$) / ns = não significativo ($p > 0,05$)

Para uma mesma linha, médias com uma mesma letra não diferem significativamente pelo teste aplicado.

Anexo 6 - Resultados da análise de variância, em relação às populações microbianas e valores de pH e de atividade de água obtidos para as formulações T5, T7, T8 e T10 de salame tipo Italiano, com intervalos de confiança de 95%, durante a sua vida-de-prateleira.

Parâmetros	Fonte de variação	Soma dos quadrados	Grau de liberdade	Quadrado médio	F	P	Grupo homogêneo
BL	Entre grupos	0,500667	2	0,2500333	4,835	0,0375s	T7a
	Dentro dos grupos	0,466000	9	0,0051778			T5ab
	Total corrigido	0,96667	11				T8b
Lab	Entre grupos	2,15268	3	0,7175595	0,604	0,6140ns	T7a
	Dentro dos grupos	128,39046	108	1,1888006			T5a
	Total corrigido	130,54314	111				T8a
Ms	Entre grupos	0,337650	3	0,1125500	0,146	0,9320ns	T10a
	Dentro dos grupos	83,217021	108	0,7705280			T8a
	Total corrigido	83,554671	111				T5a
St	Entre grupos	32,038160	3	10,679387	14,966	0,0000s	T7a
	Dentro dos grupos	63,508563	89	0,713579			T5a
	Total corrigido	95,546723	92				T8ab
Sa	Entre grupos	60,660024	3	20,220008	89,452	0,0000s	T10b
	Dentro dos grupos	17,179296	76	0,226043			T7c
	Total corrigido	77,83932	79				T10a
pH	Entre grupos	1,4657027	3	0,4885676	10,925	0,0000s	T8a
	Dentro dos grupos	4,8298464	108	0,0447208			T10ab
	Total corrigido	6,2955491	111				T5bc
Aa	Entre grupos	0,0016027	3	0,000534	2,157	0,0974ns	T7a
	Dentro dos grupos	0,0267536	108	0,000248			T10a
	Total corrigido	0,0283563	111				T8a
							T7a
							T5a

BL (bolores e leveduras), Co (coliformes totais), Ec (*Escherichia coli*), Lab (bactérias lácticas), Ms (mesófilos), Sa (*Staphylococcus aureus*), St (*Staphylococcus* spp.) e Aa (atividade de água).

* OBS: s = significativo ($p < 0,05$)/ ns = não significativo ($p > 0,05$)

Para uma mesma linha, médias com uma mesma letra não diferem significativamente pelo teste aplicado.

Anexo 7– Resultados da análise de variância, em relação às populações microbianas e valores de pH e de atividade de água obtidos para as formulações T11 e T13 de salame tipo Italiano, com intervalos de confiança de 95%, durante o período de maturação.

Parâmetros	Fonte de variação	Soma dos quadrados	Grau de liberdade	Quadrado médio	F	P	Grupo homogêneo
Co	Entre grupos	4,63766042	1	4,6376042	15,346	0,0007s	T11a
	Dentro dos grupos	6,6482917	22	0,3021951			T13b
	Total corrigido	11,285896	23				
Ec	Entre grupos	10,179188	1	10,179188	33,410	0,0000s	T11a
	Dentro dos grupos	5,484188	18	0,304677			T13b
	Total corrigido	15,663375	19				
BL	Entre grupos	0,032267	1	0,0322667	0,034	0,8580ns	T11a
	Dentro dos grupos	21,084267	22	0,9583758			T13a
	Total corrigido	21,116533	23				
Lab	Entre grupos	0,656704	1	0,6567042	0,986	0,3419ns	T11a
	Dentro dos grupos	14,645558	22	0,6657072			T13a
	Total corrigido	15,302263	23				
Ms	Entre grupos	0,0000000	1	0,0000000	0,000	1,0000ns	T13a
	Dentro dos grupos	6,9509833	22	0,3159538			T11a
	Total corrigido	6,9509800	23				
St	Entre grupos	2,2326000	1	2,2326000	6,915	0,0153s	T11a
	Dentro dos grupos	7,1034500	22	0,3228841			T13b
	Total corrigido	9,3360500	23				
pH	Entre grupos	0,0580167	1	0,0580167	0,500	0,4942ns	T13a
	Dentro dos grupos	2,5503167	22	0,1159235			T11a
	Total corrigido	2,6083333	23				
Aa	Entre grupos	0,0001042	1	0,0001042	0,041	0,8439ns	T13a
	Dentro dos grupos	0,0561917	22	0,0025542			T11a
	Total corrigido	0,0562958	23				

BL (bolores e leveduras), Co (coliformes totais), Ec (*Escherichia coli*), Lab (bactérias lácticas), Ms (mesófilos), Sa (*Staphylococcus aureus*), St (*Staphylococcus* spp.) e Aa (atividade de água).

* OBS: s = significativo ($p < 0,05$)/ ns = não significativo ($p > 0,05$)

Para uma mesma linha, médias com uma mesma letra não diferem significativamente pelo teste aplicado.

Anexo 8 – Resultados da análise de variância, em relação às populações microbianas e valores de pH e de atividade de água obtidos para as formulações T11 e T13 de salame tipo Italiano, com intervalos de confiança de 95%, durante sua vida-de-prateleira.

Parâmetros	Fonte de variação	Soma dos quadrados	Grau de liberdade	Quadrado médio	F	P	Grupo homogêneo
Co	Entre grupos	1,9178689	1	1,9178689	11,908	0,0107s	T11a
	Dentro dos grupos	1,1274200	7	0,1610600			T13b
	Total corrigido	3,0452889	8				
BL	Entre grupos	0,0248063	1	0,0248063	0,072	0,7945ns	T11a
	Dentro dos grupos	4,7924375	14	0,3423170			T13a
	Total corrigido	4,8172437	15				
Lab	Entre grupos	5,954064	1	5,9540643	7,535	0,0082s	T11a
	Dentro dos grupos	42,670136	54	0,7901877			T13b
	Total corrigido	48,624200	55				
Ms	Entre grupos	0,301645	1	0,3016446	0,556	0,4670ns	T13a
	Dentro dos grupos	29,285168	54	0,5423179			T11a
	Total corrigido	29,586813	55				
St	Entre grupos	28,215402	2	28,215402	26,830	0,0000s	T11a
	Dentro dos grupos	56,787496	54	1,051620			T13b
	Total corrigido	85,002898	55				
pH	Entre grupos	1,9575161	1	1,9575161	18,265	0,0001s	T13a
	Dentro dos grupos	5,7873679	54	0,1070735			T11b
	Total corrigido	7,7448839	55				
Aa	Entre grupos	0,0000446	1	0,0000446	0,128	0,7260ns	T13a
	Dentro dos grupos	0,0188679	54	0,0003494			T11a
	Total corrigido	0,0189125	55				

BL (bolores e leveduras), Co (coliformes totais), Ec (*Escherichia coli*), Lab (bactérias lácticas), Ms (mesófilos), Sa (*Staphylococcus aureus*), St (*Staphylococcus* spp.) e Aa (atividade de água).

* OBS: s = significativo ($p < 0,05$) / ns = não significativo ($p > 0,05$)

Para uma mesma linha, médias com uma mesma letra não diferem significativamente pelo teste aplicado.

Anexo 9 – Resultados da análise de variância, em relação às populações microbianas e valores de pH e de atividade de água obtidos para as formulações T5, T8, T12 e T14 de salame tipo Italiano, com intervalos de confiança de 95%, durante o período de maturação.

Parâmetros	Fonte de Variação	Soma dos quadrados	Grau de liberdade	Quadrado médio	F	P	Grupo homogêneo
Co	Entre grupos	15,065514	3	5,0218379	7,386	0,0005s	T8a
	Dentro dos grupos	27,196875	40	0,6799219			T5ab
	Total corrigido	42,262389	43				T12b
Ec	Entre grupos	2,430272	3	0,8100908	2,402	0,0837s	T14b
	Dentro dos grupos	12,141625	36	0,3372674			T8a
	Total corrigido	14,571898	39				T5ab
BL	Entre grupos	18,334492	3	6,1114972	7,213	0,0005s	T14ab
	Dentro dos grupos	37,282300	44	0,8473250			T12b
	Total corrigido	55,616792	47				T8a
Lab	Entre grupos	28,880423	3	9,6268076	47,265	0,0000s	T14a
	Dentro dos grupos	8,961825	44	0,2036778			T5a
	Total corrigido	37,842248	47				T12b
Ms	Entre grupos	10,738975	3	3,5796583	16,920	0,0000s	T12a
	Dentro dos grupos	9,308817	44	0,2115640			T14a
	Total corrigido	20,047792	47				T8b
St	Entre grupos	1,571683	3	0,5238944	1,890	0,1451	T5b
	Dentro dos grupos	12,194183	44	0,2771405			T8a
	Total corrigido	13,765867	47				T14a
Sa	Entre grupos	17,744573	3	5,9148576	25,882	0,0000s	T12a
	Dentro dos grupos	10,055425	44	0,2285324			T8a
	Total corrigido	27,799998	47				T12b
pH	Entre grupos	17,368990	3	5,7896632	74,858	0,0000s	T5bc
	Dentro dos grupos	3,403058	44	0,0773422			T14c
	Total corrigido	20,772048	47				T8a
Aa	Entre grupos	0,0003396	3	0,0001132	0,048	0,9857ns	T5a
	Dentro dos grupos	0,1027417	44	0,0023350			T14b
	Total corrigido	0,1030812	47				T12b
							T14a
							T5a
							T8a
							T12a

BL (bolores e leveduras), Co (coliformes totais), Ec (*Escherichia coli*), Lab (bactérias lácticas), Ms (mesófilos), Sa (*Staphylococcus aureus*), St (*Staphylococcus* spp.) e Aa (atividade de água).

* OBS: s = significativo ($p < 0,05$) / ns = não significativo ($p > 0,05$)

Para uma mesma linha, médias com uma mesma letra não diferem significativamente pelo teste aplicado.

Anexo 10 - Resultados da análise de variância, em relação às populações microbianas e valores de pH e de atividade de água obtidos para as formulações T5, T8, T12 e T14 de salame tipo Italiano, com intervalos de confiança de 95%, durante o período de maturação sua vida-de-prateleira.

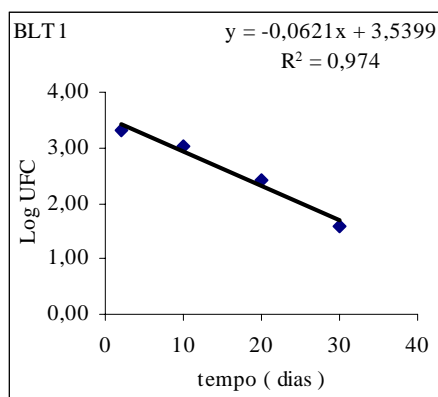
Parâmetros	Fonte de variação	Soma dos quadrados	Grau de liberdade	Quadrado médio	F	P	Grupo homogêneo
Co	Entre grupos	0,0021125	1	0,0021125	0,006	0,9405ns	T12a
	Dentro dos grupos	2,0342750	6	0,3390458			T14a
	Total corrigido	2,0363875	7				
BL	Entre grupos	1,1472750	3	0,3824250	1,222	0,3278ns	T5a
	Dentro dos grupos	6,2609875	20	0,3130494			T14a
	Total corrigido	7,4082625	23				T8a
Lab	Entre grupos	94,522818	3	31,507606	39,191	0,0000s	T12a
	Dentro dos grupos	86,826807	108	0,803952			T14a
	Total corrigido	181,34963	111				T5b
Ms	Entre grupos	9,900525	3	3,3001750	5,534	0,0014s	T12a
	Dentro dos grupos	64,410871	108	0,5963970			T14ab
	Total corrigido	74,311396	111				T8b
St	Entre grupos	37,570244	3	12,523415	11,957	0,0000s	T5b
	Dentro dos grupos	93,218081	89	1,047394			T5a
	Total corrigido	130,78832	92				T8a
Sa	Entre grupos	55,029031	3	28,343010	30,676	0,0000s	T12b
	Dentro dos grupos	57,404669	96	0,597965			T14b
	Total corrigido	112,43370	99				T5c
pH	Entre grupos	30,554161	3	10,184720	266,71	0,0000s	T8a
	Dentro dos grupos	4124150	108	0,038187			T5b
	Total corrigido	34,678311	111				T14c
Aa	Entre grupos	0,0019321	3	0,000644	1,848	0,1428ns	T12d
	Dentro dos grupos	0,0376357	108	0,000348			T14a
	Total corrigido	0,0395679	111				T8a
							T5a
							T12a

BL (bolores e leveduras), Co (coliformes totais), Ec (*Escherichia coli*), Lab (bactérias lácticas), Ms (mesófilos), Sa (*Staphylococcus aureus*), St (*Staphylococcus* spp.) e Aa (atividade de água).

* OBS: s = significativo ($p < 0,05$)/ ns = não significativo ($p > 0,05$)

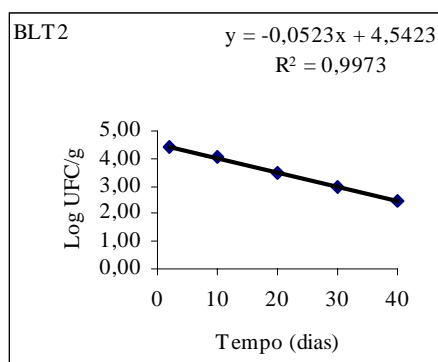
Para uma mesma linha, médias com uma mesma letra não diferem significativamente pelo teste aplicado.

Anexo 11- Valores D calculados para as populações sobreviventes de bolores e leveduras nas produções estudadas durante o período de maturação e a vida de prateleira



	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	3,5443	0,1377	25,7474	1,51E-03
Variável BLT1	-0,0622	0,0073	-8,4671	1,37E-02

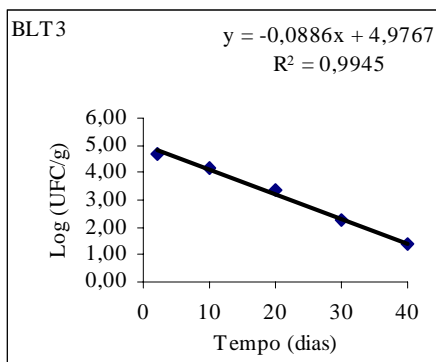
-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0621	67240,91	0,0073	0,0001	3,583268	2	16	18	14



	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	4,5401	0,0342	132,6824	9,44E-07
Variável BLT2	-0,0523	0,0014	-37,4363	4,19E-05

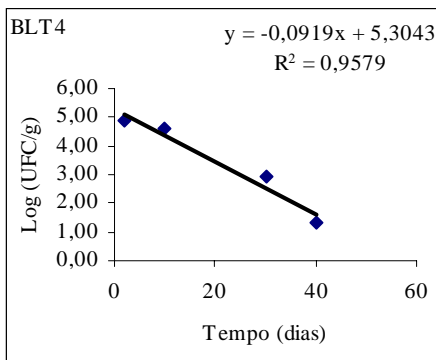
-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0523	132640,10	0,0014	0,000002	0,258498	1	19	20	18

$$SE(D) = \sqrt{V(D)} = \sqrt{\left(\frac{1}{2}\right)^2 \times SE(b)}$$



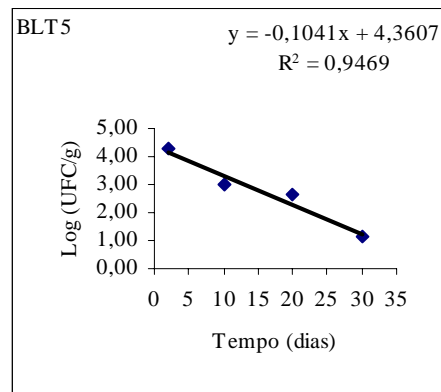
	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	4,9812	0,0924	53,9032	1,41E-05
Variável BLT3	-0,0886	0,0038	-23,5755	1,67E-04

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0886	16228,00	0,0038	0,00001	0,234332	0,5	11	12	11



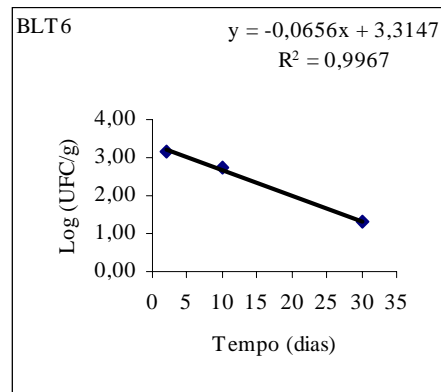
	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	5,3043	0,3478	15,2490	4,27E-03
Variável BLT4	-0,0919	0,0136	-6,7422	2,13E-02

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0919	14019,68	0,0136	0,00018	2,593079	2	11	13	9



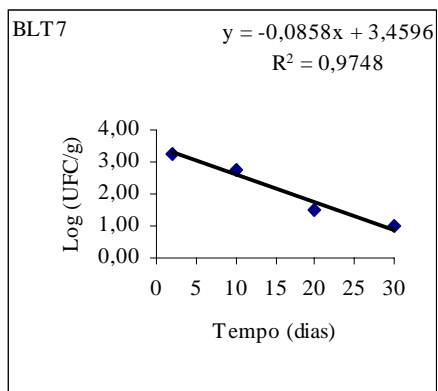
	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	4,3679	0,3278	13,3231	5,59E-03
Variável BLT5	-0,1041	0,0175	-5,9649	2,70E-02

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,1041	8515,24	0,0175	0,0003	2,607793	2	10	12	8



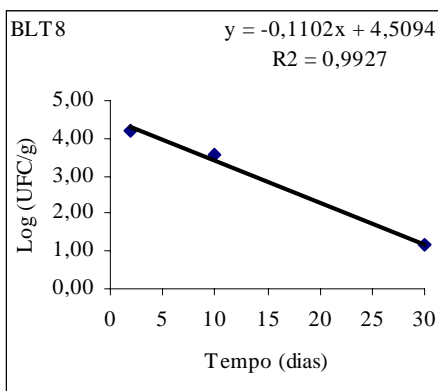
	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	3,3242	0,0660	50,3567	1,26E-02
Variável BLT6	-0,0656	0,0036	-18,3597	3,46E-02

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0656	53998,87	0,0036	0,00001	0,699825	1	15	16	14



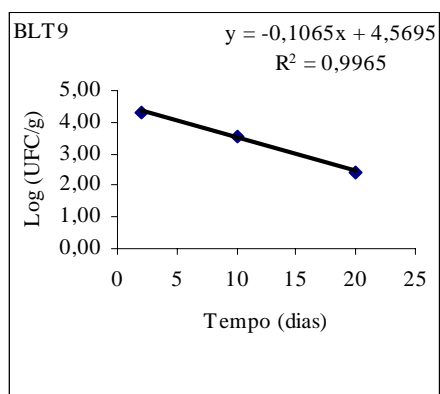
	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	3,45957	0,18265	18,94145	2,78E-03
Variável BLT7	-0,0858	0,00975	-8,79882	1,27E-02

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0858	18452,31	0,00975	0,0001	1,754123	1	12	13	11



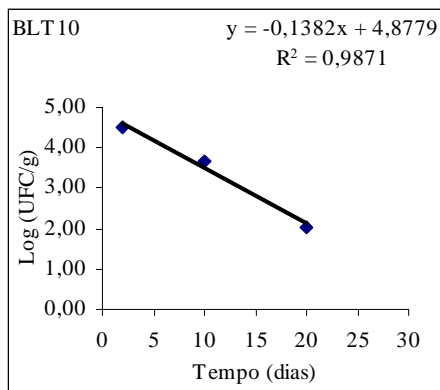
	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	4,5114	0,1747	25,8269	2,46E-02
Variável BLT8	-0,1102	0,0095	-11,5806	5,48E-02

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,1102	6780,69	0,0095	0,0001	0,611957	1	9	10	8



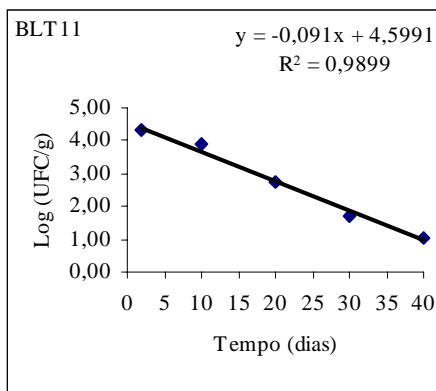
	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	4,5695	0,0819	55,8025	1,14E-02
Variável BLT9	-0,1065	0,0063	-16,8599	3,77E-02

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,1065	7773,23	0,0063	0,00004	0,308520	1	9	10	8



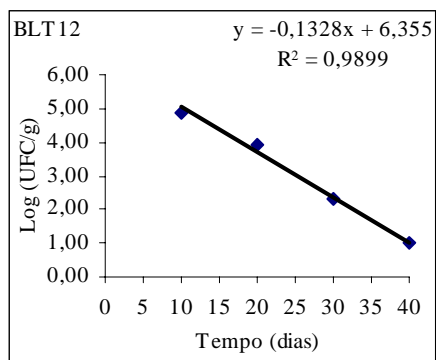
	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	4,8779	0,2052	23,7739	2,68E-02
Variável BLT10	-0,1382	0,0158	-8,7327	7,26E-02

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,1382	2741,37	0,0158	0,0002	0,684356	1	7	8	6



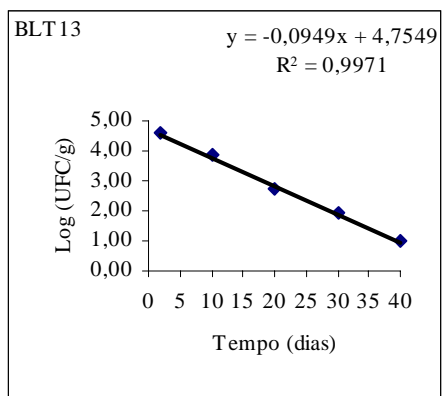
	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	4,5991	0,1302	35,3363	4,98E-05
Variável BLT11	-0,0910	0,0053	-17,1444	4,32E-04

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0910	14455,08	0,0053	0,00003	0,406043	1	11	12	10



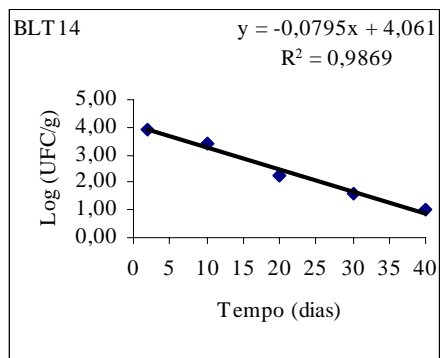
	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	6,3550	0,2619	24,2631	1,69E-03
Variável BLT12	-0,1328	0,0096	-13,8959	5,14E-03

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,1328	3215,20	0,0096	0,00009	0,296313	1	8	9	7



	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	4,7549	0,0723	65,7389	7,76E-06
Variável BLT13	-0,0949	0,0030	-32,1757	6,60E-05

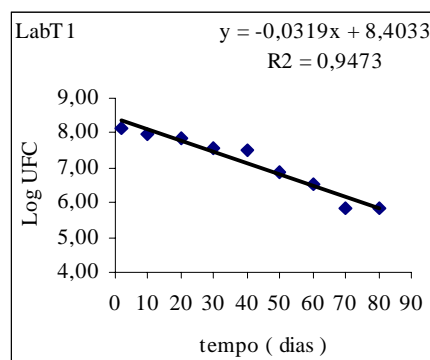
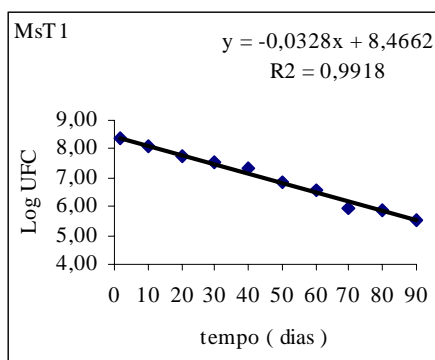
-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0949	12329,21	0,0030	0,00001	0,110963	0,3	10,5	10,9	10,2



	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	4,0610	0,1294	31,3786	7,11E-05
Variável BLT14	-0,0795	0,0053	-15,0496	6,37E-04

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0795	25034,07	0,0053	0,00003	0,703207	1	13	14	12

Anexo 12- Valores D calculados para as populações de microrganismos mesófilos e bactérias lácticas nas produções estudadas durante o período de maturação e a vida de prateleira

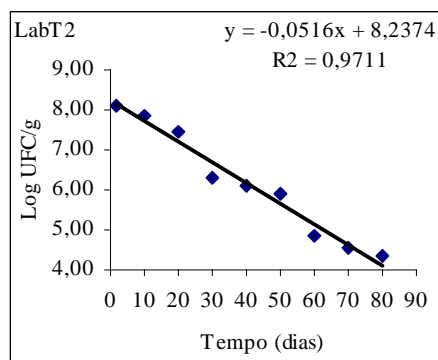
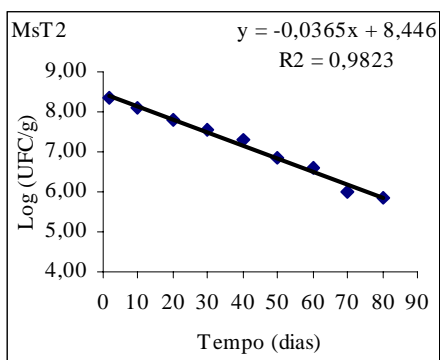


	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	8,4662	0,0561	150,9319	4,15E-15
Variável MsT1	-0,0328	0,0011	-31,1912	1,21E-09

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0328	8,64E+05	0,0011	0,000001	1,045418	1	30	31	29

	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	8,4033	0,1354	62,0854	7,39E-11
Variável LabT1	-0,0319	0,0028	-11,2142	1,00E-05

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0319	9,66E+05	0,0028	0,000008	7,571001	3	31	34	28

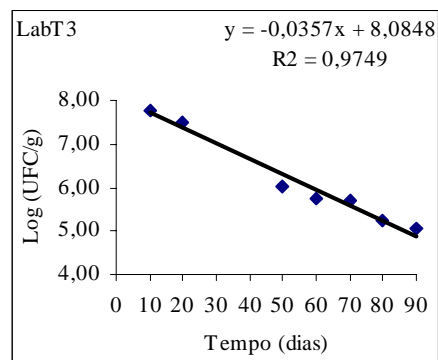
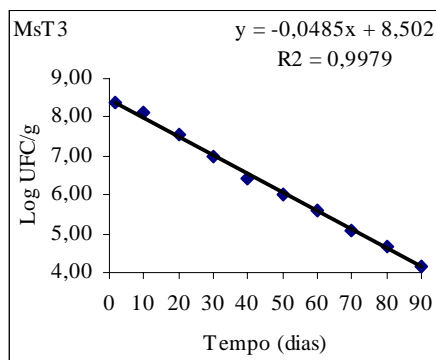


	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	8,4460	0,0881	95,8461	3,55E-12
Variável MsT2	-0,0365	0,0019	-19,7081	2,16E-07

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0365	5,63E+05	0,0019	0,000004	2,033929	1	27	28	26

	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	8,2374	0,1603	51,3901	2,77E-10
Variável LabT2	-0,0516	0,0034	-15,3255	1,21E-06

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0516	1,41E+05	0,0034	0,000012	1,630644	1	19	20	18

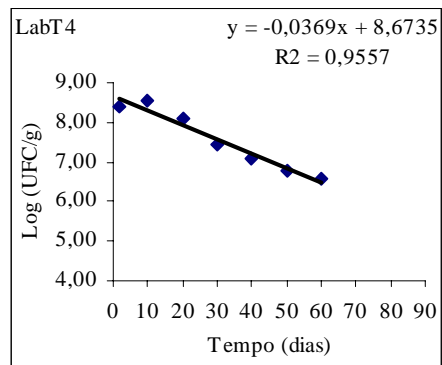
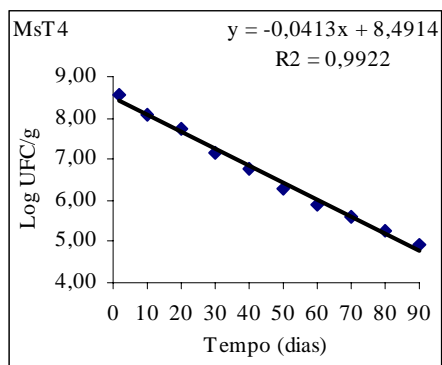


	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	8,5020	0,0416	204,5539	3,65E-16
Variável MsT3	-0,0485	0,0008	-62,2941	4,90E-12

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0485	1,81E+05	0,0008	0,000001	0,115668	0,34	21	21,3	20,7

	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	8,0848	0,1562	51,7652	5,09E-08
Variável LabT3	-0,0357	0,0026	-13,9388	3,42E-05

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0357	6,16E+05	0,0026	0,000007	4,161729	2	28	30	26

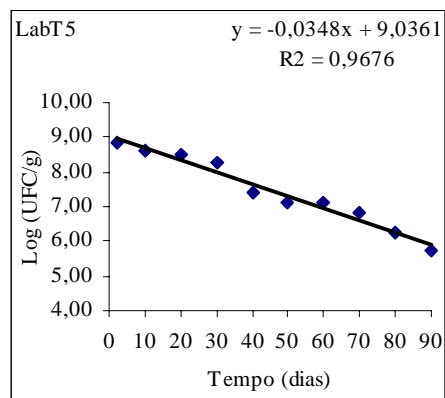
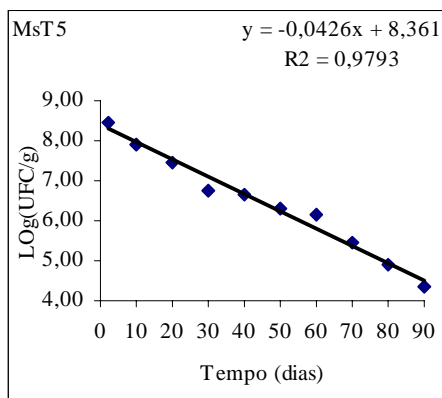


	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	8,4914	0,0693	122,5077	2,20E-14
Variável MsT4	-0,0413	0,0013	-31,8399	1,03E-09

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0413	3,44E+05	0,0013	0,000002	0,580880	1	24	25	23

	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	8,6735	0,1280	67,7568	1,33E-08
Variável LabT4	-0,0369	0,0035	-10,3847	1,43E-04

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0369	5,39E+05	0,0035	0,000012	6,607400	3	27	30	24

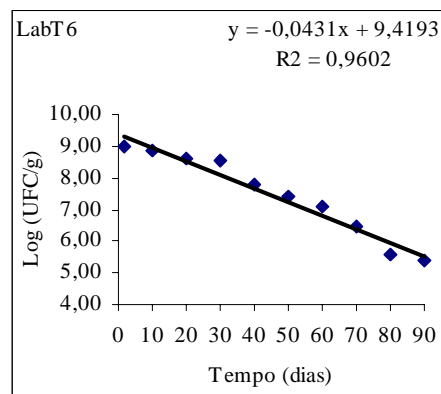
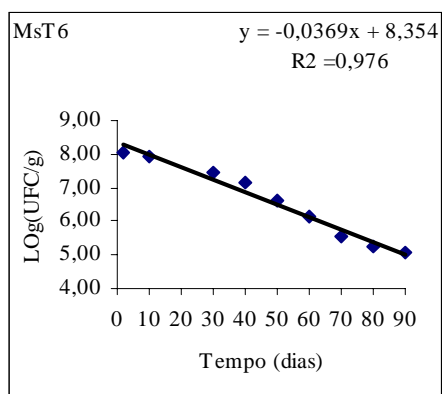


	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	8,3610	0,1171	71,3965	1,65E-12
Variável MstT5	-0,0426	0,0022	-19,4367	5,10E-08

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0426	3,04E+05	0,0022	0,000005	1,469626	1	23	24	22

	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	9,0361	0,1202	75,1909	1,09E-12
Variável LabT5	-0,0348	0,0023	-15,4518	3,06E-07

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0348	6,82E+05	0,0023	0,000005	3,606938	2	29	31	27

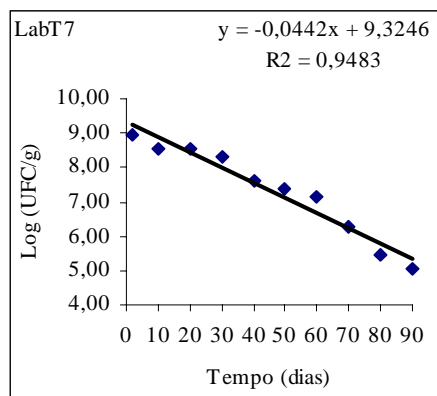
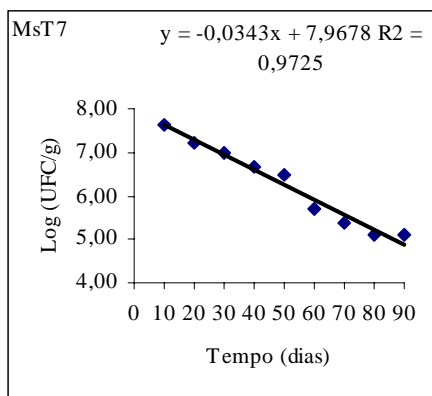


	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	8,3540	0,1221	68,4105	0,0000
Variável MsT6	-0,0369	0,0022	-16,8807	0,0000

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0369	5,39E+05	0,0022	0,000005	2,610597	2	27	29	25

	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	9,4193	0,1659	56,7729	1,03E-11
Variável LabT6	-0,0431	0,0031	-13,8850	7,00E-07

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0431	2,90E+05	0,0031	0,000010	2,784930	2	23	25	21

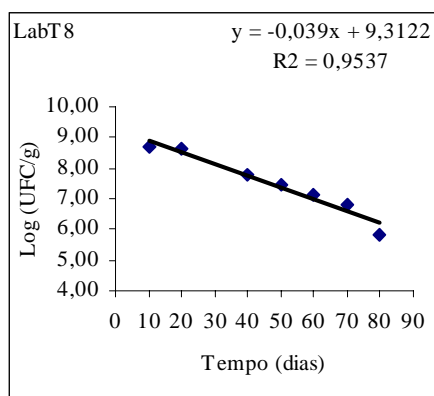
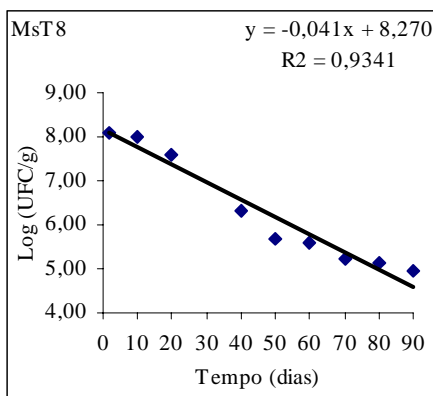


	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	7,9678	0,1227	64,9141	5,41E-11
Variável MsT7	-0,0343	0,0022	-15,7405	1,01E-06

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0343	7,22E+05	0,0022	0,000005	3,496785	2	29	31	27

	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	9,3246	0,1949	47,8412	4,03E-11
Variável LabT7	-0,0442	0,0037	-12,1178	1,99E-06

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0442	2,62E+05	0,0037	0,000014	3,586860	2	23	25	21

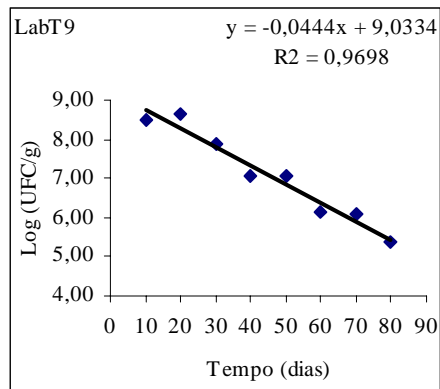
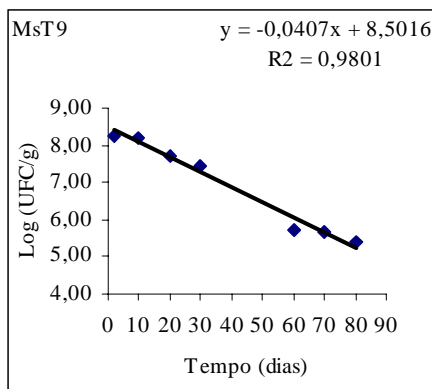


	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	8,1560	0,1869	43,6415	8,66E-10
Variável MsT8	-0,0398	0,0034	-11,7931	7,15E-06

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0410	3,54E+05	0,0034	0,000012	4,090933	2	24	26	22

	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	9,3122	0,2028	45,9272	9,24E-08
Variável LabT8	-0,0390	0,0038	-10,1482	1,59E-04

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0390	4,32E+05	0,0038	0,000014	6,241784	2	26	28	24

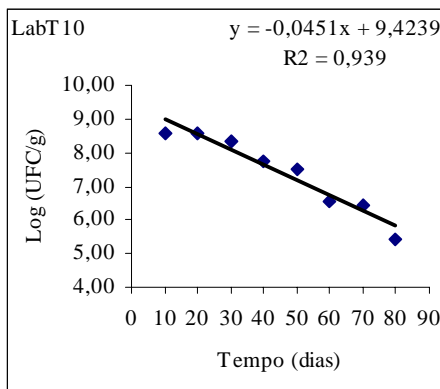
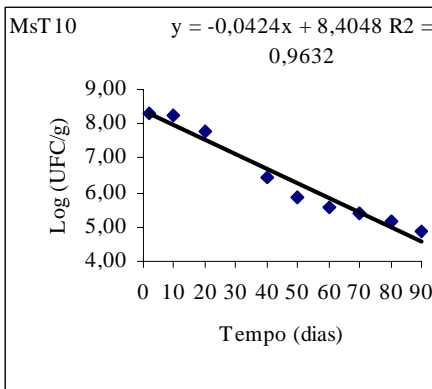


	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	8,5016	0,1254	67,7924	1,32E-08
Variável MsT9	-0,0407	0,0026	-15,6779	1,92E-05

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0407	3,64E+05	0,0026	0,000007	2,463594	2	25	27	23

	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	9,2200	0,1956	47,1412	6,11E-09
Variável LabT9	-0,0472	0,0039	-12,1995	1,85E-05

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0444	2,57E+05	0,0039	0,000015	3,913788	2	23	25	22

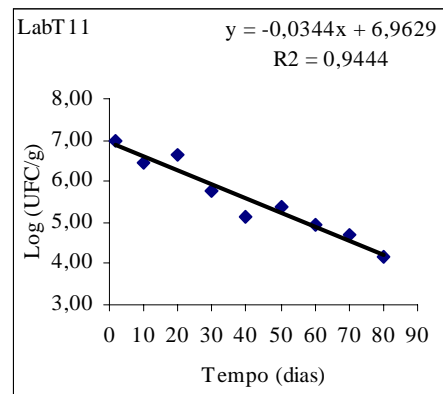
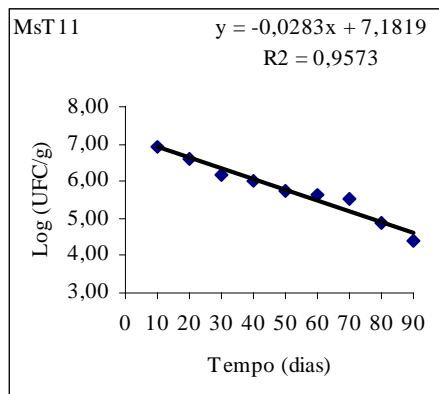


	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	8,4048	0,1737	48,3751	4,22E-10
Variável MsT10	-0,0424	0,0031	-13,5308	2,83E-06

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0424	3,09E+05	0,0031	0,000010	2,973445	2	24	26	22

	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	9,4239	0,2367	39,8140	1,68E-08
Variável LabT10	-0,0451	0,0047	-9,6130	7,25E-05

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0451	2,42E+05	0,0047	0,000022	5,339364	2	22	24	20

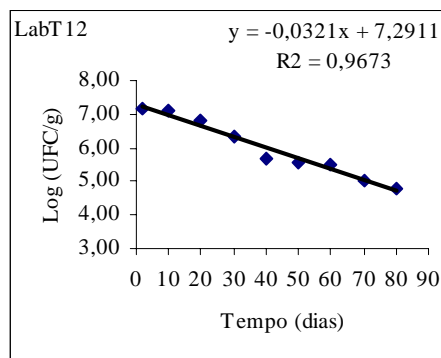
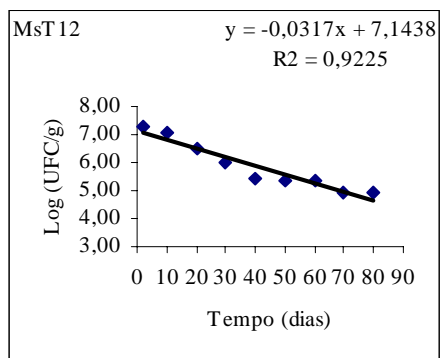


	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	7,1819	0,1271	56,5042	1,43E-10
Variável MsT11	-0,0283	0,0023	-12,5219	4,78E-06

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0283	1,56E+06	0,0023	0,000005	8,247265	3	35	38	32

	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	6,9629	0,1502	46,3508	5,69E-10
Variável LabT11	-0,0344	0,0032	-10,9066	1,20E-05

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0344	7,14E+05	0,0032	0,000010	7,312505	3	29	32	26

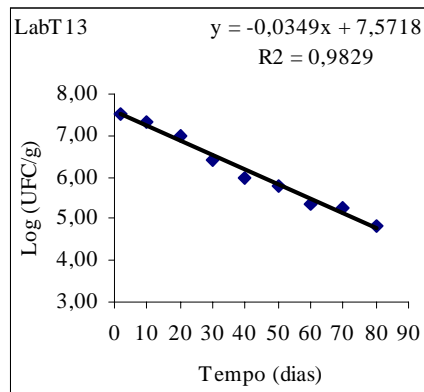
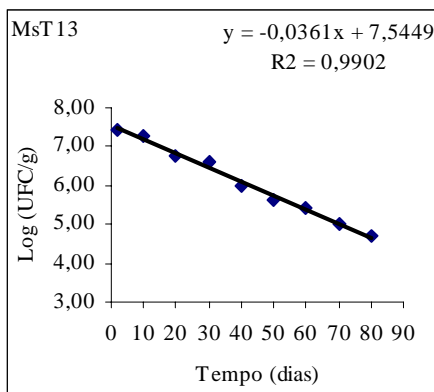


	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	7,1438	0,1653	43,2078	9,29E-10
Variável MST12	-0,0317	0,0035	-9,1280	3,89E-05

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0317	9,90E+05	0,0035	0,000012	12,131068	3	32	35	29

	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	7,2911	0,1063	68,6069	3,67E-11
Variável LabT12	-0,0321	0,0022	-14,3941	1,86E-06

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0321	9,42E+05	0,0022	0,000005	4,558534	2	31	33	29

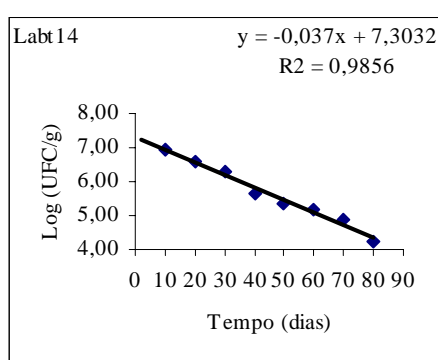
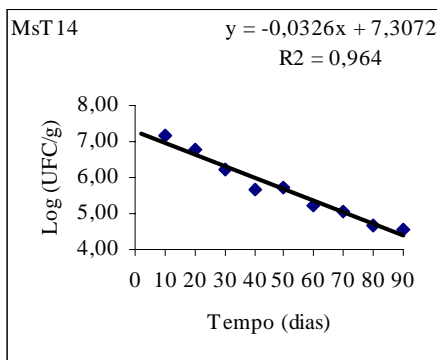


	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	7,5449	0,0645	116,9258	8,82E-13
Variável MsT13	-0,0361	0,0014	-26,6496	2,68E-08

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0361	5,89E+05	0,0014	0,000002	1,154057	1	28	29	27

	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	7,5718	0,0828	91,4101	4,94E-12
Variável LabT13	-0,0349	0,0017	-20,0803	1,90E-07

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0349	6,74E+05	0,0017	0,000003	1,948032	1	29	30	28



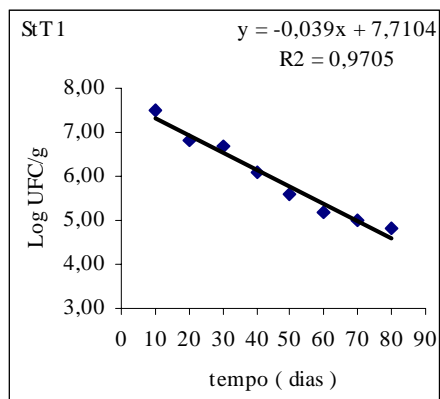
	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	7,3072	0,1341	54,4787	1,84E-10
Variável MST14	-0,0326	0,0024	-13,6910	2,61E-06

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0326	8,85E+05	0,0024	0,000006	5,099788	2	31	33	29

	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	7,3032	0,0922	79,2207	2,72E-10
Variável LabT14	-0,0370	0,0018	-20,2608	9,39E-07

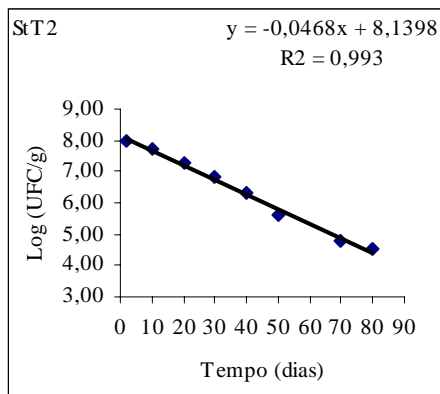
-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0370	5,34E+05	0,0018	0,000003	1,728774	1	27	28	26

Anexo 13- Valores D calculados para as populações sobreviventes de *Staphylococcus* spp. e *Staphylococcus aureus* nas produções estudadas durante o período de maturação e a vida de prateleira



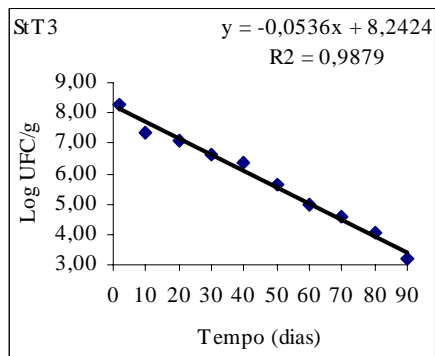
	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	7,7104	0,1399	55,0958	2,40E-09
Variável StT1	-0,0390	0,0028	-14,0556	8,09E-06

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0390	4,32E+05	0,0028	0,000008	3,388891	2	26	28	24



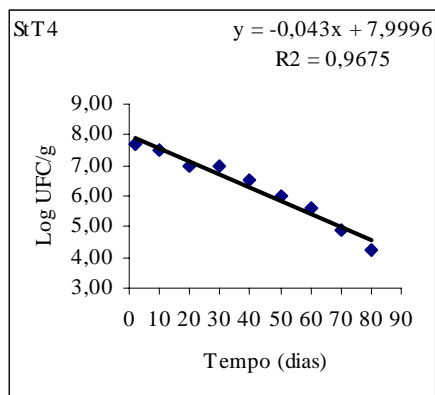
	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	8,1398	0,0738	110,3057	3,74E-11
Variável StT2	-0,0468	0,0016	-29,0768	1,10E-07

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0468	2,08E+05	0,0016	0,000003	0,533650	1	21	23	19



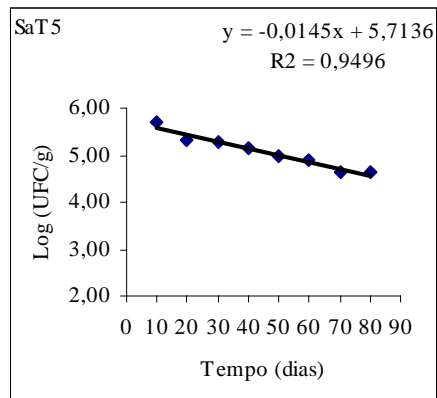
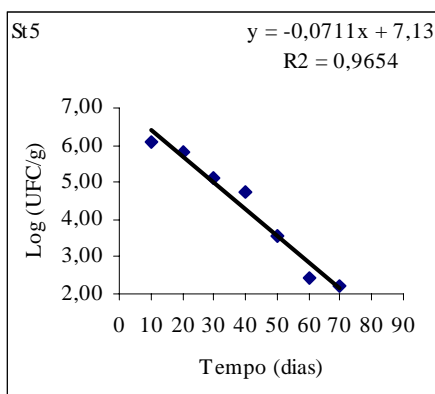
	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	8,2424	0,1121	73,5303	1,30E-12
Variável StT3	-0,0536	0,0021	-25,5150	5,97E-09

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0536	1,21E+05	0,0021	0,000004	0,534293	1	19	21	17



	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	7,9996	0,1418	56,4212	1,44E-10
Variável StT4	-0,0430	0,0030	-14,4317	1,83E-06

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0430	2,93E+05	0,0030	0,000009	2,632502	2	23	25	21

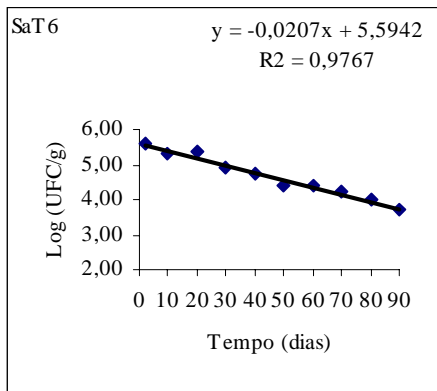
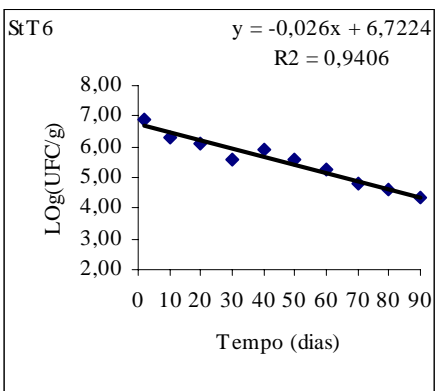


	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	7,1300	0,2694	26,4641	0,0000
Variável StT5	-0,0711	0,0060	-11,8090	0,0001

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0711	3,91E+04	0,0060	0,00004	1,408718	1	14	15	13

	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	5,7136	0,0690	82,8074	2,09E-10
Variável SaT5	-0,0145	0,0014	-10,6295	4,09E-05

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0145	2,26E+07	0,0014	0,000002	44,338813	7	69	76	62

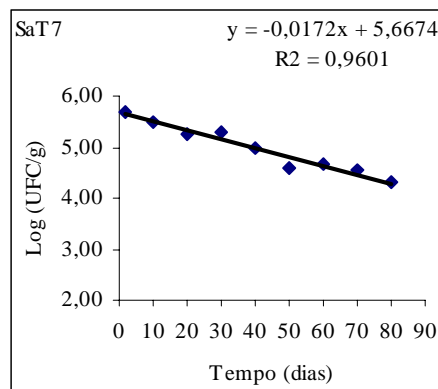
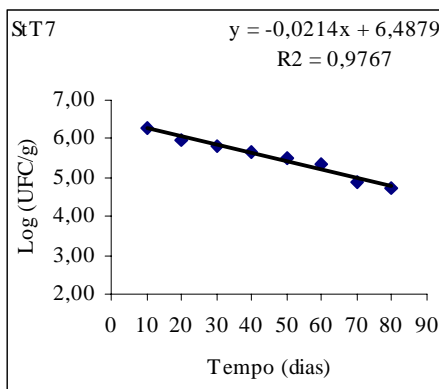


	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	6,7224	0,1236	54,3868	1,45E-11
Variável StT6	-0,0260	0,0023	-11,2511	3,50E-06

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0260	2,19E+06	0,0023	0,000005	11,576100	3	38		

	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	5,5942	0,0604	92,6142	2,06E-13
Variável SaT6	-0,0207	0,0011	-18,3065	8,16E-08

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0207	5,45E+06	0,0011	0,000001	6,590282	3	48	51	45

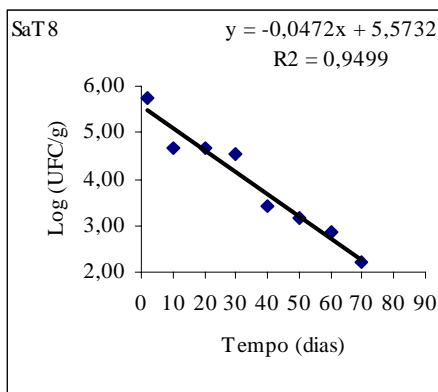
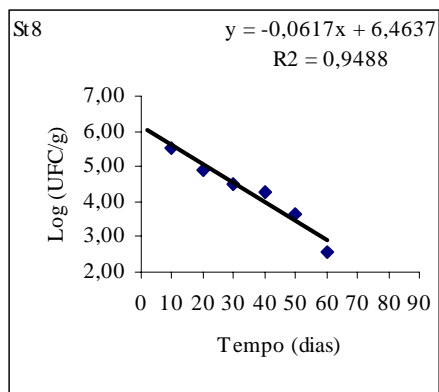


	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	6,4879	0,0680	95,3893	8,94E-11
Variável StT7	-0,0214	0,0013	-15,8655	3,98E-06

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0214	4,77E+06	0,0013	0,000002	8,058081	3	47	50	44

	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	5,6674	0,0631	89,8421	5,58E-12
Variável SaT7	-0,0172	0,0013	-12,9828	3,74E-06

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0172	1,14E+07	0,0013	0,000002	19,309584	4	58	62	54

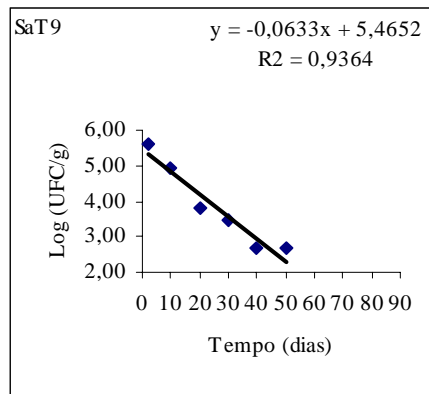
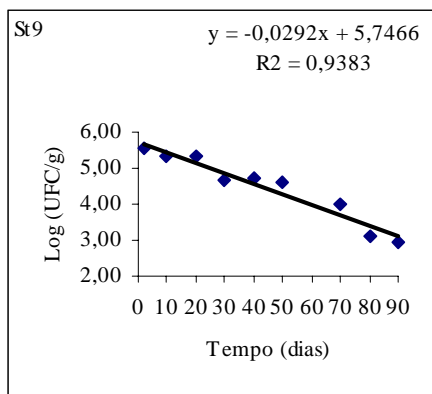


	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	6,1333	0,2398	25,5747	1,39E-05
Variável StT8	-0,0541	0,0062	-8,7923	9,23E-04

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0541	6,90E+04	0,0062	0,00004	2,652423	2	16	18	14

	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	5,5732	0,1851	30,1137	8,90E-08
Variável SaT8	-0,0472	0,0044	-10,6642	4,01E-05

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0472	2,01E+05	0,0044	0,00002	3,900653	2	21	23	19

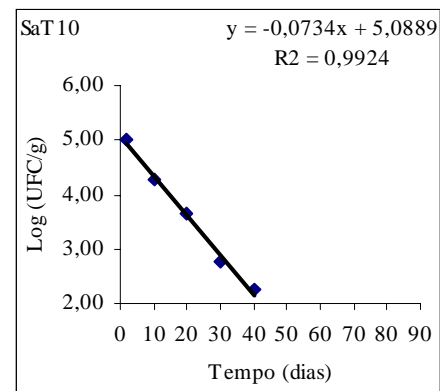
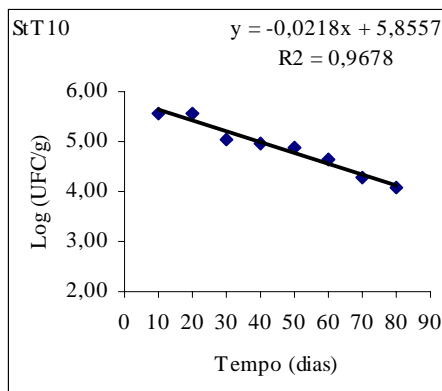


	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	5,7466	0,1490	38,5761	2,05E-09
Variável StT9	-0,0292	0,0028	-10,3138	1,74E-05

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0292	1,38E+06	0,0028	0,00001	10,784119	3	34	37	31

	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	5,4652	0,2498	21,8775	2,58E-05
Variável SaT9	-0,0633	0,0082	-7,6744	1,55E-03

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0633	6,23E+04	0,0082	0,00007	4,188060	2	16	18	14

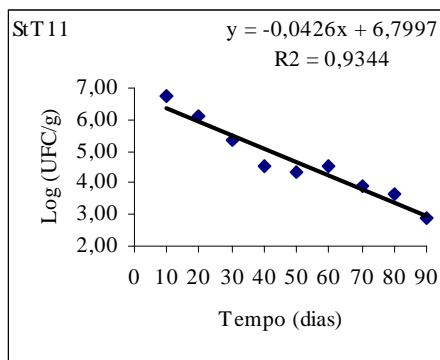


	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	5,8557	0,0820	71,4087	5,08E-10
Variável StT10	-0,0218	0,0016	-13,4377	1,05E-05

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0218	4,43E+06	0,0016	0,000003	11,334803	3	46	49	43

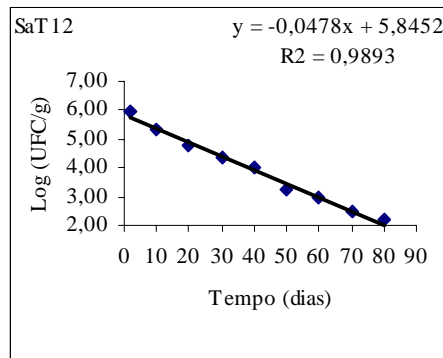
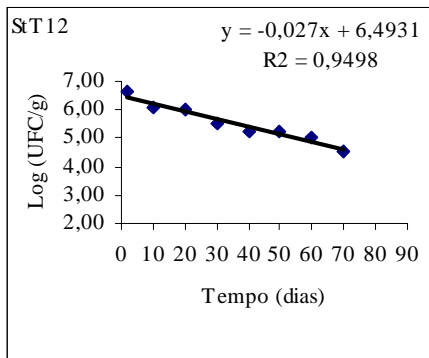
	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	5,0889	0,0909	56,0094	1,25E-05
Variável SaT10	-0,0734	0,0037	-19,7958	2,82E-04

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0734	3,45E+04	0,0037	0,00001	0,471649	1	14	15	13



	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	6,7997	0,2402	28,3090	1,76E-08
Variável StT11	-0,0426	0,0043	-9,9842	2,16E-05

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0426	3,04E+05	0,0043	0,00002	5,614337	2	23	25	21

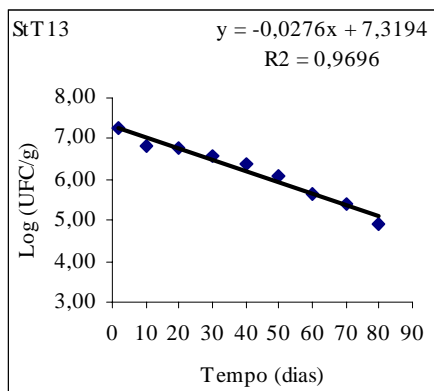


	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	6,4931	0,1058	61,3438	1,26E-09
Variável StT12	-0,0270	0,0025	-10,6598	4,02E-05

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0270	1,88E+06	0,0025	0,00001	11,760478	3	37	40	34

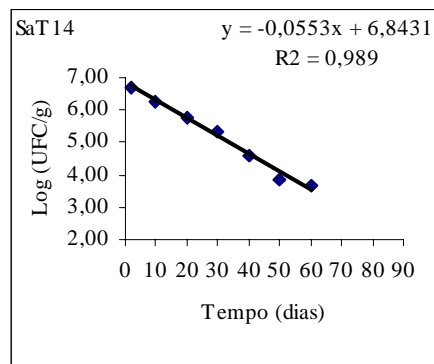
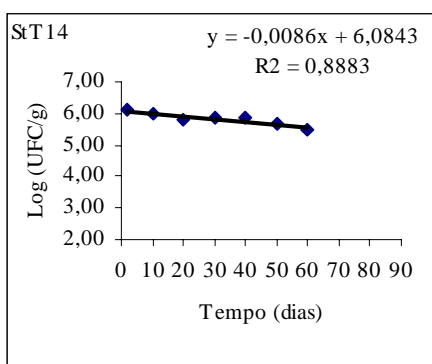
	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	5,8452	0,0896	65,2407	5,22E-11
Variável SaT12	-0,0478	0,0019	-25,3926	3,75E-08

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0478	1,92E+05	0,0019	0,000004	0,691505	1	21	22	20



	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	7,3194	0,0881	83,0984	9,62E-12
Variável SaT13	-0,0276	0,0018	-14,9396	1,44E-06

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0276	1,72E+06	0,0018	0,000003	5,583528	2	36	38	34



	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	6,0843	0,0494	123,2120	6,68E-10
Variável StT14	-0,0086	0,0014	-6,3047	1,48E-03

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0086	1,83E+08	0,0014	0,000002	358,31275	19	116	135	97

	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>
Interseção	6,8431	0,0942	72,6070	9,39E-09
Variável SaT14	-0,0553	0,0026	-21,1745	4,35E-06

-b	$(1/b^2)^2$	SE(b)	[SE(b ²)]	V(D)	*SE(D)	D	D _{máx}	D _{mín}
0,0553	1,07E+05	0,0026	0,00001	0,722847	1	18	19	17