

Salame elaborado com *Lactobacillus plantarum* fermentado em meio de cultura de plasma suíno

Salami sausage prepared with Lactobacillus plantarum fermented in porcine plasma culture medium

Paulo Cezar Bastianello CAMPAGNOL^{1*}, Leadir Lucy Martins FRIES¹, Nelcindo Nascimento TERRA¹,
Bibiana Alves dos SANTOS², Ariane Schmidt FURTADO¹

Resumo

Este trabalho teve por objetivo produzir uma cultura *starter* com uma cepa de *Lactobacillus plantarum* em um meio de cultura com plasma suíno e verificar a viabilidade de sua aplicação em salame. O meio de cultura foi preparado com plasma suíno e água destilada (1:1, pH 11,0). Após a esterilização, 300 mL foram adicionados de 400 mL de uma solução estéril de glicose e difosfato de potássio. A cepa de *Lb. plantarum* foi semeada no meio de cultura e submetida à fermentação em pH 7,0, durante 36 horas (100 rpm, $37 \pm 0,1$ °C). Ao alcançar a fase estacionária, a cultura foi centrifugada e ressuspensa em leite desnatado estéril, liofilizada e aplicada em salame. A influência do inóculo foi avaliada nas características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais de salames. Os resultados encontrados foram comparados com tratamentos sem adição de cultura *starter* e com uma cultura comercial. O microrganismo *Lb. plantarum* teve um crescimento máximo de 9,82 Log UFC.mL⁻¹, após 30 horas de fermentação. Os salames elaborados com a cultura *starter* produzida apresentaram uma queda de pH significativamente maior, e menor valor de atividade de água que os demais tratamentos. O microrganismo *Lb. plantarum* melhorou significativamente o sabor dos salames.

Palavras-chave: cultura *starter*; plasma suíno; salame.

Abstract

The purpose of this work was to produce a starter culture with a strain of *Lactobacillus plantarum* in a porcine plasma culture medium and ascertain the viability of applying it in salami sausage. The culture medium was prepared with porcine plasma and distilled water (1:1, pH 11.0). After sterilization, 300 mL were added of 400 mL of a sterile solution of glucose and potassium diphosphate. The *Lb. plantarum* strain was inoculated into the culture medium and subjected to fermentation at pH 7.0 for 36 hours (100 rpm, 37 ± 0.1 °C). When the stationary phase was reached, the culture was centrifuged and resuspended in sterile skimmed milk, lyophilized and applied to salami. An evaluation was made of the influence of the inoculum on the microbiological, physicochemical and sensorial characteristics of salami sausages. The results were compared with treatments without the addition of starter culture and with a commercial culture. The microorganism *Lb. plantarum* showed a maximum growth of 9.82 Log UFC.mL⁻¹ after 30 hours of fermentation. The salami sausages prepared with the starter culture produced in this study showed a significantly greater drop in pH and lower water activity than the other treatments. The microorganism *Lb. plantarum* improved the flavor of the salami sausages considerably.

Keywords: starter culture; porcine plasma; salami sausage.

1 Introdução

O sangue animal é uma importante fonte de proteínas com muitas aplicações na indústria de alimentos. Essas proteínas podem ser utilizadas como agentes emulsificantes, estabilizantes, clarificantes, componentes nutritivos para realçar as propriedades dos alimentos e suplemento de lisina¹⁰. No entanto, somente uma pequena proporção do sangue oriundo de animais abatidos tem esse aproveitamento, já que a maior parte é descartada no meio ambiente, elevando o nível poluente dos resíduos originados de abatedouros¹⁷.

Para reduzir esse problema ambiental, é necessário o desenvolvimento de alternativas que permitam a utilização desse material em larga escala. Uma possível aplicação do sangue animal é a sua utilização como fonte proteica na elaboração de um meio de cultura para a produção de culturas *starter*

ácido lácticas, o que reduziria inclusive os custos de produção desses microrganismos.

As culturas *starter* ácido lácticas são fundamentais na fabricação de produtos cárneos fermentados. A partir de açúcares presentes na massa cárnea, essas culturas adicionadas produzem ácido láctico, com conseqüente redução do pH e solubilização de proteínas⁶. A queda do pH para valores próximos ao ponto isoelétrico das proteínas reduz a capacidade de retenção de água, favorecendo a secagem e a perda de peso do produto cárneo fermentado. Essas alterações conferem uma textura firme (consistência) e conferem fatiabilidade ao produto final⁴. Além dessas vantagens tecnológicas, a acidez resultante dificulta o desenvolvimento de muitos microrganismos patogênicos e deteriorantes²⁵.

As bactérias mais promissoras para serem utilizadas como culturas *starter* são aquelas isoladas da microbiota autóctone de produtos artesanais. Esses microrganismos se adaptam bem ao meio cárneo e são capazes de controlar os microrganismos patogênicos e deteriorantes, devido à produção de compostos antimicrobianos, como por exemplo, ácidos orgânicos, diacetil e bacteriocinas⁹.

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi desenvolver uma cultura de *Lactobacillus plantarum* em um meio de cultura

Recebido para publicação em 26/1/2007

Aceito para publicação em 8/6/2007 (002239)

¹ Centro de Ciências Rurais – CCR,
Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, Avenida Roraima, 1000,
Cidade Universitária, Bairro Camobi, CEP 97105-900,
Santa Maria - RS, Brasil,
Email: paulocampagnol@yahoo.com.br

² Centro de Ciências da Saúde – CCS,
Universidade Federal de Santa Maria – UFSM

*A quem a correspondência deve ser enviada

produzido com plasma sanguíneo suíno, além de verificar a sua viabilidade como cultura *starter* em salame, avaliando sua influência nas características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais.

2 Material e métodos

2.1 Elaboração da cultura *starter*

Obtenção e fracionamento do sangue suíno

O sangue foi obtido de suínos abatidos em frigorífico sob Inspeção Federal, coletado diretamente da ferida de sangria, em frascos estéreis de 1000 mL contendo 10 mL de citrato de sódio (Merck, Darmstadt, Germany), evitando-se o contato com a pele do animal.

Após liberação pelo Serviço de Inspeção, o sangue foi imediatamente transportado ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos - UFSM, onde foi centrifugado (Centrífuga Z36 HK, Labnet International, Edison, USA) a 3000 rpm por 25 minutos para separação de hemáceas e do plasma. O plasma obtido foi transferido para frascos de vidro estéreis e mantido a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, até o momento de sua utilização.

Preparo do meio de cultura de plasma suíno

A elaboração do meio de cultura para amplificação da cultura *starter* foi baseada nas recomendações de BARBOZA et al.², porém ao invés de utilizar plasma bovino, utilizou-se plasma suíno. O plasma suíno foi descongelado e diluído em água destilada, na proporção 1:1, ajustando-se o pH para 11,0, com hidróxido de sódio 1N (Merck). Essa solução foi esterilizada ($121\text{ }^{\circ}\text{C}/15'$) e 300 mL foram adicionados a uma solução estéril composta por água destilada (400 mL), glicose (10 g) e difosfato de potássio (3 g).

Preparo da cultura *starter*

Uma cepa de *Lb. plantarum* isolada de salames artesanais²⁸ e mantida a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ em ágar de Man, Rogosa & Sharpe (MRS, Merck) foi utilizada para o preparo da cultura *starter*. No momento do uso, uma alçada da cultura foi semeada em caldo MRS (Merck) e incubada a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, por 48 horas. Após a incubação, a cepa foi inoculada no meio de cultura de plasma suíno na proporção de 1% (v.v⁻¹), obtendo-se um volume final de 1,5 L. O meio de cultura inoculado foi então submetido à fermentação (Fermentador MA-502, Marconi Equipamentos para Laboratório Ltda., Piracicaba, Brasil), mantendo-se o pH em 7,0, com a adição de NaOH 12% (Merck), agitação contínua de 100 rpm, temperatura de $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$) por 36 horas.

Avaliação do fermentado

A fermentação da cultura *starter* foi monitorada durante 36 horas. Nas primeiras 18 horas foram coletadas amostras, em duplicata, em frascos estéreis, a cada seis horas. Após este período, as amostras passaram a ser coletadas em intervalos de três horas.

Uma alíquota de 10 mL de cada amostra foi utilizada para se determinar a concentração da cultura, sendo diluída serialmente em escala decimal utilizando água peptonada 0,1% (Merck) e semeada em ágar de MRS (Merck), com incubação a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, por 48 horas. O resultado foi expresso em unidades formadoras de colônias por mL (UFC.mL⁻¹) de amostra²⁹. Outra alíquota de 10 mL da amostra integral foi utilizada para mensuração da densidade ótica por leitura espectrofotométrica a 610 nm, utilizando-se espectrofotômetro (Lambda 2S, PerkinElmer do Brasil Ltda, São Paulo, Brasil).

Manutenção da cultura *starter*

Assim que a cultura de *Lb. plantarum* atingiu a fase estacionária, verificada pela suspensão da adição de hidróxido de sódio no meio de plasma suíno, uma alíquota de 500 mL do meio fermentado foi retirada e centrifugada (Centrífuga Z36 HK) a 3000 rpm, por 20 minutos. O sobrenadante foi desprezado e a biomassa foi lavada e ressuspendida a 10% (w.v⁻¹) em leite desnatado esterilizado, congelada e liofilizada por 12 horas a 50 mmHg (Liofilizador L 101, Liobrás, São Carlos, Brasil).

Sobrevivência do *Lb. plantarum* durante a liofilização

A sobrevivência foi verificada pelo número de células viáveis em unidades formadoras de colônia por mL antes e após a liofilização. Antes do processo, uma alíquota de 10 mL da suspensão da cultura e leite foi retirada e submetida à diluição decimal utilizando água peptonada 0,1% (Merck), plaqueadas em ágar de MRS (Merck) e incubadas a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, por 48 horas. As amostras liofilizadas foram ressuspendidas em água peptonada a 0,1% (Merck), diluídas, plaqueadas e incubadas da mesma maneira²¹.

2.2 Avaliação da cultura *starter* em salame

Elaboração do salame

As amostras de salame foram elaboradas de acordo com a seguinte formulação: carne suína (700 g.kg^{-1}), carne bovina (300 g.kg^{-1}), cloreto de sódio (25 g.kg^{-1}), glicose (5 g.kg^{-1}), sacarose (5 g.kg^{-1}), ascorbato de sódio ($2,5\text{ g.kg}^{-1}$), pimenta branca (2 g.kg^{-1}), alho (3 g.kg^{-1}), noz moscada ($0,2\text{ g.kg}^{-1}$) e mistura comercial de cura (Germinal Aditivos, São Paulo, Brasil), contendo nitrato e nitrito de sódio (3 g.kg^{-1}). A carne suína foi moída (Moedor Jamar PJ22, Jamar Ltda, São Paulo, Brasil) em disco de 12 mm e a carne bovina em disco de 8 mm. Após a moagem as carnes sofreram a adição de cloreto de sódio, misturando-se em misturadeira (Jamar MJI 35) durante 3 minutos para a extração das proteínas miofibrilares. A seguir, foram adicionados os demais ingredientes, com exceção do ascorbato de sódio que foi acrescentado por último³⁰.

A massa cárnea foi dividida igualmente em três lotes, originando os seguintes tratamentos: Controle, sem adição de cultura *starter*; Tratamento 1 (T1), adição de cultura *starter* comercial Floracarn SPX (Chr. Hansen Ind. e Com. Ltda, Valinhos, Brasil), contendo os microrganismos *Pediococcus pentosaceus* e *Staphylococcus xylosus*; Tratamento 2 (T2), adição da cultura *starter* liofilizada de *Lb. plantarum* e cul-

tura *starter* comercial Floracarn SX (Chr. Hansen), contendo o microrganismo *Staphylococcus xylosus*. A quantidade de cultura *starter* adicionada foi de 0,25 g.kg⁻¹, sendo que no T2 utilizou-se uma percentagem de 70% de *Lb. plantarum* e 30% de *S. xylosus*.

A massa cárnea dos tratamentos foi embutida (Embutideira Jamar EJI-09) em tripas artificiais de colágeno, com 60 mm de diâmetro e cortadas em peças de aproximadamente 15 cm de comprimento, totalizando 25 peças de aproximadamente 200 g para cada tratamento. Após o embutimento, as amostras foram submetidas a um banho em solução de sorbato de potássio 20% (Henrifarma Prod. Quim. Farm. Ltda, São Paulo, Brasil) e encaminhadas para a câmara climatizada (Menocin, Erechim, Brasil), com temperatura e umidade relativa controlada, onde permaneceram durante 21 dias. A programação de temperatura e umidade relativa (T°/UR%) foram as seguintes: primeiro dia, temperatura 25 °C/U.R. 95%; segundo dia 24 °C/93%; terceiro dia 23 °C/90%; quarto dia 22 °C/85%; quinto dia 21 °C/80%; sexto dia 20 °C/75% e sétimo dia em diante 18 °C/75%. Concluída a fabricação retiraram-se as tripas, e as peças dos embutidos fermentados foram embaladas a vácuo (Selovac 200B, Selovac Ind. Com. Ltda., São Paulo, Brasil) e armazenadas à temperatura ambiente.

Análises físico-químicas

Determinação do pH

A medição do pH foi realizada homogeneizando-se 10 gramas de amostra com água destilada (1:10 amostra/água). O homogeneizado foi submetido aos eletrodos do pHmetro (DM 22, Digimed, São Paulo, Brasil) por 5 minutos, quando foi procedida a leitura do pH³¹. A determinação do pH foi realizada no início (dia 0) e com 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14 e 21 dias de fabricação.

Determinação da atividade de água (A_w)

A determinação da A_w foi realizada utilizando-se o aparelho Testo 400 CE (Testo GMBH & CO., Lenzkirch, Germany), nos dias 0, 3, 7, 14 e 21 de fabricação.

Perda de peso

A perda de peso foi determinada pela diferença de peso existente entre as peças cárneas no momento do embutimento (dia 0) e após o produto acabado (dia 21)³¹.

Medição da cor

A determinação da cor foi realizada pelo aparelho Minolta Chroma Meter CR-300 (Minolta Câmera Co. Ltda, Osaka, Japan) nos dias 0, 3, 7, 14 e 21 de fabricação. Os resultados foram expressos como L* (brilho), a* (índice vermelho) e b* (índice amarelo).

Análises microbiológicas

Características microbiológicas dos salames foram avaliadas após a sua fabricação (dia 0) e com 3, 7, 14 e 21 dias de

fermentação e maturação. Alíquotas de 25 gramas foram coletadas nesses dias, homogeneizadas com 225 mL de água peptonada 0,1% (Merck) e diluídas serialmente em escala decimal. Bactérias ácido lácticas (BAL) foram enumeradas utilizando-se ágar de MRS (Merck) (37 °C/48 horas), *Staphylococcus* spp. em ágar Baird-Parker (Merck) (32 °C/48 horas) e confirmação de *Staphylococcus coagulase positiva* pelo teste de coagulase com plasma de coelho (Merck) de seis colônias típicas (coloração negra, brilhante, com halos de depósito de sais e atividade de lecitinase), coliformes totais em ágar cristal violeta-vermelho neutro-bile (Merck) (37 °C/24 horas) e coliformes fecais em caldo EC (Merck) (45 °C/48 horas)²⁹.

Análise sensorial

Foi realizado um teste sensorial de aceitação com os produtos finais (Controle, Tratamento 1 e Tratamento 2), utilizando-se uma escala hedônica estruturada de sete pontos, variando de desgostei muitíssimo (nota 1) a gostei muitíssimo (nota 7). As amostras foram avaliadas por 30 provadores não treinados, mas consumidores de salame, considerando os atributos de cor, aroma, sabor e textura¹⁶.

Análise estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicata e os dados foram avaliados através de análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey, considerando o nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$), utilizando o pacote estatístico SAS, versão 6.12²⁷.

3 Resultados e discussão

3.1 Elaboração da cultura *starter*

A curva de crescimento e a densidade óptica a 610 nm da cultura de *Lb. plantarum* em meio de plasma suíno durante a fermentação são apresentadas na Figura 1. A fermentação, com concentração média inicial de células viáveis de *Lb. plantarum* de 6,67 Log UFC.mL⁻¹, alcançou seu crescimento máximo em 30 horas (9,82 Log UFC.mL⁻¹). A densidade ótica apresentou o mesmo comportamento, atingindo um pico máximo de 0,83 após 30 horas de fermentação. Esses resultados são muito semelhantes aos encontrados por HYUN e SHIN¹⁰, que ao utilizarem um hidrolisado enzimático de plasma bovino como fonte de nitrogênio na elaboração de um meio de cultura para propagação de bactérias ácido lácticas encontraram um crescimento máximo de 9,71 Log UFC.mL⁻¹, após 24 horas de fermentação.

A cepa de *Lb. plantarum* foi liofilizada ao entrar na fase estacionária, após 30 horas de fermentação, para ser aplicada como cultura *starter* em salame. A taxa de sobrevivência a liofilização da cepa estudada foi de 90,05%. A elevada taxa de sobrevivência a liofilização é muito importante, já que as culturas *starter* são geralmente comercializadas na forma liofilizada, e a estabilidade a esse processo é essencial para a produção de culturas viáveis.

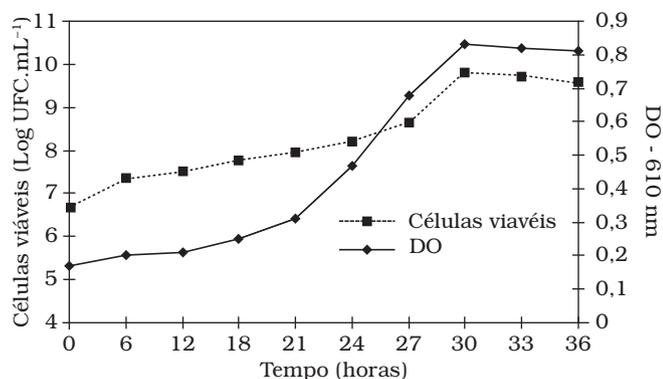


Figura 1. Curva de crescimento e densidade óptica a 610 nm do cultivo de *Lactobacillus plantarum* em meio de cultura de plasma suíno.

3.2 Avaliação da cultura starter em salame

Análises físico-químicas

A evolução do pH durante o período de fabricação dos salames é apresentada na Figura 2. Observa-se que em todos os tratamentos os valores de pH diminuíram até o sétimo dia de maturação. Essa queda ocorreu fundamentalmente devido ao acúmulo de ácido lático, formado pela ação das bactérias ácido lácticas sobre os carboidratos presentes na massa cárnea³⁰. O declínio no valor de pH durante os primeiros dias de fermentação é muito importante para a produção de salames de alta qualidade e segurança devido à inibição de microrganismos indesejáveis, conversão e estabilização da cor e formação de compostos desejáveis de sabor e aroma¹⁵. Após o sétimo dia, foi observado um leve aumento dos valores de pH em todos os tratamentos, provavelmente devido à produção de amônia (proteólise), em decorrência da atividade enzimática durante a maturação e também devido ao aumento de substâncias tampão e diminuição de eletrólitos presentes^{7,14}.

A partir do segundo dia de fermentação, T1 e T2 apresentaram uma diminuição do valor de pH significativamente maior que o controle, persistindo esta diferença até o final da maturação. T2 apresentou uma queda maior no pH ($p < 0,05$) que T1, do segundo até o sexto dia de fermentação, apresentando valores semelhantes ao final da fermentação (7º dia). Esta diferença pode ser atribuída a maior capacidade de acidificação que os microrganismos do gênero *Lactobacillus* possuem em relação a *Pediococcus spp.*, presentes em T1¹. Ainda, temperaturas entre 20 e 25 °C favorecem mais o desenvolvimento de *Lactobacillus spp.* do que de *Pediococcus spp.*¹⁹. A partir do sétimo dia, T1 teve uma maior elevação no pH que T2, ficando com um pH final significativamente mais elevado (Tabela 1).

A atividade de água diminuiu em todos os tratamentos durante o processamento (Figura 3). Essa redução pode ser atribuída à queda dos valores de pH, pois a capacidade de retenção de água das proteínas da carne diminui na medida que o pH se aproxima do seu ponto isoelétrico, acelerando a desidratação e conseqüentemente reduzindo a A_w ⁵. T2 apresentou maior queda de pH, e também atividade de água significativamente menor que os demais tratamentos no final

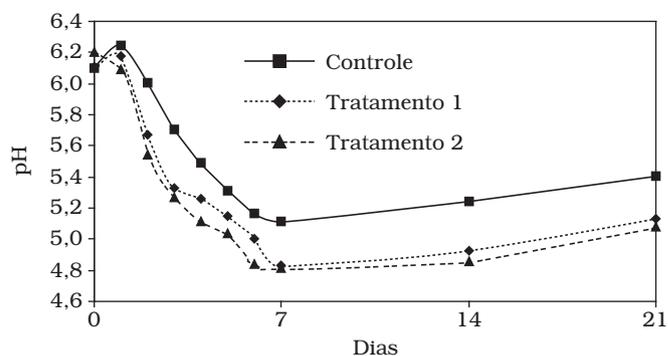


Figura 2. Evolução do pH dos salames formulados com diferentes culturas starter. Controle: sem inoculação de cultura starter; Tratamento 1: inoculado com *Pediococcus pentosaceus* e *Staphylococcus xylosum*; e Tratamento 2: inoculado com *Lactobacillus plantarum* fermentado em meio de cultura de plasma suíno e *Staphylococcus xylosum*.

do processo de fabricação (Tabela 1). NASSU, GONÇALVES e BESERRA²⁰ encontraram resultados semelhantes ao avaliarem a ação de diferentes culturas starter na elaboração de embutidos fermentados de carne caprina, encontrando valores de A_w menores em amostras que apresentaram maior queda de pH, devido a maior perda de água.

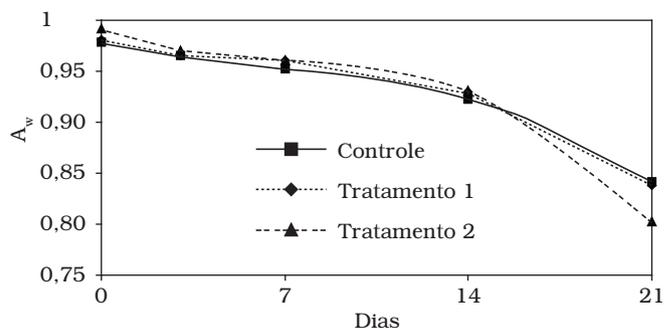


Figura 3. Evolução da A_w dos salames formulados com diferentes culturas starter. Controle: sem inoculação de cultura starter; Tratamento 1: inoculado com *Pediococcus pentosaceus* e *Staphylococcus xylosum*; e Tratamento 2: inoculado com *Lactobacillus plantarum* fermentado em meio de cultura de plasma suíno e *Staphylococcus xylosum*.

A perda de peso ficou em torno de 60%, não apresentando diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 1). Esses valores estão acima da faixa de 30 a 40%, considerada ideal para produtos fermentados secos²⁶. A ausência de toucinho na formulação foi a provável causa dessa desidratação excessiva, pois de acordo com MUGUERZA et al.¹⁸, a redução do nível de gordura em salames ocasiona uma maior perda de peso.

Os valores obtidos na determinação da cor nos salames durante a fabricação estão apresentados na Tabela 2. Os valores de L^* diminuíram em todos os tratamentos ao longo dos 21 dias de fabricação, não sendo observada diferença significativa entre os tratamentos. Este decréscimo representa a formação da cor escura em decorrência de reações de escurecimento³.

Tabela 1. Valores médios finais (\pm desvio padrão) de pH, A_w e perda de peso nas partidas de salames formulados com diferentes culturas *starter*.

	Controle	Tratamento 1	Tratamento 2
pH	5,40 \pm 0,005 ^a	5,13 \pm 0,008 ^b	5,08 \pm 0,004 ^c
A_w	0,842 \pm 0,04 ^a	0,838 \pm 0,01 ^a	0,803 \pm 0,07 ^b
Perda de peso (%)	60,05 \pm 1,04 ^a	59,31 \pm 1,29 ^a	59,62 \pm 1,90 ^a

Médias acompanhadas pela mesma letra, na mesma linha, não apresentam diferença significativa ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey. Controle: sem inoculação de cultura *starter*; Tratamento 1: inoculado com *Pedococcus pentosaceus* e *Staphylococcus xylosum*; e Tratamento 2: inoculado com *Lactobacillus plantarum* fermentado em meio de cultura de plasma suíno e *Staphylococcus xylosum*.

Tabela 2. Valores médios (\pm desvio padrão) da determinação de cor dos salames formulados com diferentes culturas *starter* expressos como L* (brilho), a* (índice vermelho) e b* (índice amarelo).

Dias	Tratamentos*	L*	a*	b*
0	C	52,77 \pm 0,22 ^a	11,22 \pm 0,17 ^a	12,88 \pm 0,16 ^a
	T1	53,22 \pm 0,58 ^a	11,00 \pm 0,72 ^a	12,16 \pm 0,56 ^a
	T2	53,64 \pm 0,12 ^a	11,32 \pm 0,08 ^a	12,95 \pm 0,04 ^a
3	C	46,45 \pm 0,14 ^a	18,58 \pm 0,55 ^b	10,86 \pm 0,31 ^a
	T1	46,51 \pm 0,41 ^a	22,91 \pm 0,17 ^a	10,82 \pm 0,38 ^a
	T2	48,58 \pm 0,97 ^a	20,60 \pm 0,67 ^a	10,57 \pm 0,19 ^a
7	C	44,50 \pm 0,55 ^a	23,11 \pm 0,01 ^b	10,22 \pm 0,02 ^a
	T1	46,64 \pm 0,15 ^a	23,91 \pm 0,06 ^a	10,45 \pm 0,02 ^a
	T2	45,78 \pm 0,79 ^a	23,73 \pm 0,12 ^a	10,20 \pm 0,58 ^a
14	C	40,93 \pm 0,36 ^a	23,42 \pm 0,42 ^a	10,62 \pm 0,04 ^a
	T1	43,76 \pm 0,76 ^a	24,30 \pm 0,14 ^a	11,23 \pm 0,55 ^a
	T2	44,74 \pm 0,36 ^a	24,34 \pm 0,21 ^a	11,00 \pm 0,04 ^a
21	C	37,22 \pm 1,03 ^a	20,62 \pm 0,42 ^a	7,88 \pm 0,09 ^a
	T1	38,70 \pm 0,50 ^a	18,85 \pm 0,45 ^b	6,89 \pm 0,48 ^a
	T2	38,02 \pm 0,15 ^a	20,74 \pm 0,01 ^a	7,49 \pm 0,07 ^a

Médias acompanhadas pela mesma letra, na mesma coluna, no mesmo dia, não apresentam diferença significativa ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey. *C: sem inoculação de cultura *starter*; Tratamento 1: inoculado com *Pedococcus pentosaceus* e *Staphylococcus xylosum*; e Tratamento 2: inoculado com *Lactobacillus plantarum* fermentado em meio de cultura de plasma suíno e *Staphylococcus xylosum*.

KAYAARDI e GÖK¹¹ obtiveram resultados semelhantes ao verificarem que geralmente os valores de L* de salames diminuem durante o período de maturação.

Os valores de a* aumentaram durante os primeiros 14 dias e então diminuíram no final do período de fabricação (Tabela 2). Durante os primeiros dias de fermentação, o óxido nítrico já presente na carne combina-se com a mioglobina produzindo a nitrosomioglobina¹⁵. Como este pigmento tem coloração vermelha, os valores de a* aumentaram durante a elaboração do salame. Foram observados valores de a* em T1 e T2 significativamente maiores que no controle nos dias 3 e 7, devido provavelmente à ação das culturas *starter* presentes. De acordo com TERRA³⁰, a acidificação causada pelas bactérias lácticas acelera a formação de cor e a redução de nitrato a nitrito, causada por *Staphylococcus* spp. aumenta a disponibilidade de NO para reagir com a mioglobina. A possível razão para a diminuição nos valores de a* no final da maturação pode ser a parcial ou total desnaturação do pigmento nitrosomioglobina devido à produção de ácido láctico²². KAYAARDI e GÖK¹¹ obtiveram resultados semelhantes, verificando que valores de a* de salames aumentaram durante o período de fermentação, e então diminuíram durante a maturação devido à desidratação.

Os valores de b* diminuíram em todos os tratamentos durante a fabricação, não sendo observada diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 2). Estes resultados foram similares aos obtidos por PEREZ-ALVAREZ et al.²², que observaram a diminuição dos valores de b* em salames durante a fermentação e maturação, atribuindo este decréscimo ao consumo de oxigênio pelos microrganismos, com conseqüente redução da oximioglobina, a qual contribui para a coloração amarela.

Análises microbiológicas

Durante todo o período de fabricação dos salames não foi detectado em nenhum tratamento a presença de coliformes fecais e de *Staphylococcus* coagulase positiva (Tabela 3). Segundo RANTSIOU e COCOLIN²³, as BAL compõem a microbiota predominante em embutidos fermentados, devido às condições anaeróbicas do meio e presença de cloreto de sódio, nitrato e nitrito, alcançando uma contagem de 7-8 Log UFC.g⁻¹ após três dias de fermentação, mantendo-se estável durante a maturação. Neste trabalho foi verificada, no início da fabricação (dia 0), uma contagem de aproximadamente 4,0 Log UFC.g⁻¹ de BAL no controle, e em T1 e T2 foi observada uma contagem significativamente superior de aproximadamente 7,0 Log UFC.g⁻¹, devido à inoculação das culturas *starter*. Após 7 dias de fermentação, o controle alcançou uma contagem de BAL de aproximadamente 8,0 Log UFC.g⁻¹, permanecendo estável até o final da maturação. Nos tratamentos contendo culturas *starter* (T1 e T2) foi observada uma contagem superior a 8,0 Log UFC.g⁻¹ após 3 dias de fermentação, diminuindo em aproximadamente um ciclo logarítmico em T1 no final da maturação, sendo significativamente menor que os outros tratamentos, e mantendo-se quase estável em T2. GONZÁLES-FERNÁNDEZ et al.⁷, ao avaliarem o crescimento de BAL em salames formulados sem culturas *starter* e com diferentes cepas de *Lactobacillus* e *Pedococcus* obtiveram resultados semelhantes aos observados neste trabalho.

As contagens de *Staphylococcus* coagulase negativa em T1 e T2 apresentaram uma redução de aproximadamente um ciclo logarítmico no final do processo de maturação (Tabela 3). Este é um comportamento normal destes microrganismos, visto que a queda do pH e da concentração de oxigênio são fatores limitantes de seu desenvolvimento²⁴. No entanto, no controle, foi verificado um aumento de 3,61 Log UFC.g⁻¹ para 7,23 Log UFC.g⁻¹ no final da maturação, que pode ser atribuído ao maior valor de pH do controle (5,40) comparado a T1 (5,13) e T2 (5,08)¹².

Os valores iniciais de coliformes totais (Tabela 3) foram baixos, evidenciando a boa qualidade higiênico-sanitária da matéria-prima. Os coliformes totais foram progressivamente eliminados em todos os tratamentos durante a fabricação. No entanto, algumas diferenças foram observadas entre os salames com e sem cultura *starter*. O controle apresentou coliformes totais durante quase todo o período de maturação, enquanto que em T1 e T2 esse grupo desapareceu no 7º dia. A grande e rápida queda de pH (Figura 2) ocorrida nos salames inoculados pode explicar a rápida redução e a eliminação desses microrganismos^{8,13}.

Tabela 3. Análises microbiológicas (Log UFC.g⁻¹) durante o período de fabricação dos salames formulados com diferentes culturas *starter*.

Dias	Tratamento*	BAL	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	Coliformes totais	Coliformes fecais
0	C	4,06 ± 0,17** ^b	3,61 ± 0,18 ^b	<1,00	2,89 ± 0,02 ^a	<1,00
	T1	6,94 ± 0,08 ^a	6,86 ± 0,11 ^a	<1,00	2,80 ± 0,07 ^a	<1,00
	T2	7,13 ± 0,07 ^a	7,09 ± 0,10 ^a	<1,00	2,74 ± 0,09 ^a	<1,00
3	C	7,47 ± 0,09 ^b	5,96 ± 0,19 ^b	<1,00	2,77 ± 0,14 ^b	<1,00
	T1	8,15 ± 0,05 ^a	7,00 ± 0,05 ^a	<1,00	1,71 ± 0,32 ^a	<1,00
	T2	8,04 ± 0,05 ^a	5,31 ± 0,11 ^c	<1,00	1,75 ± 0,10 ^a	<1,00
7	C	7,91 ± 0,04 ^b	6,89 ± 0,06 ^a	<1,00	2,78 ± 0,33	<1,00
	T1	7,51 ± 0,06 ^c	7,01 ± 0,16 ^a	<1,00	<1,00	<1,00
	T2	8,03 ± 0,02 ^a	6,18 ± 0,11 ^b	<1,00	<1,00	<1,00
14	C	7,83 ± 0,04 ^b	7,05 ± 0,11 ^a	<1,00	1,41 ± 0,48	<1,00
	T1	7,45 ± 0,07 ^c	6,04 ± 0,06 ^b	<1,00	<1,00	<1,00
	T2	8,09 ± 0,02 ^a	6,20 ± 0,12 ^b	<1,00	<1,00	<1,00
21	C	7,99 ± 0,04 ^a	7,23 ± 0,17 ^a	<1,00	<1,00	<1,00
	T1	7,01 ± 0,21 ^b	5,78 ± 0,04 ^b	<1,00	<1,00	<1,00
	T2	7,98 ± 0,15 ^a	5,67 ± 0,11 ^b	<1,00	<1,00	<1,00

Médias acompanhadas pela mesma letra, na mesma coluna, no mesmo dia, não apresentam diferença significativa ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey. *C: sem inoculação de cultura *starter*; Tratamento 1: inoculado com *Pedococcus pentosaceus* e *Staphylococcus xylosum*; e Tratamento 2: inoculado com *Lactobacillus plantarum* fermentado em meio de cultura de plasma suíno e *Staphylococcus xylosum*. **Desvio padrão da média.

Análise sensorial

Os valores médios obtidos para os quesitos de cor, aroma, sabor e textura estão na Tabela 4. De uma maneira geral, todos os parâmetros analisados variaram entre gostei moderadamente e gostei muito, não ocorrendo diferença significativa nos atributos de cor, aroma e textura. Houve diferença significativa apenas para o atributo sabor, onde T2 apresentou um maior valor, em comparação com os outros tratamentos, indicando uma maior preferência dos provadores pelo salame elaborado com a cultura *starter* de *Lb. plantarum* produzida em meio de cultura de plasma suíno. GONZÁLES-FERNÁNDEZ et al.⁷ também obtiveram maiores valores no quesito sabor em salames elaborados com uma cepa de *Lactobacillus* isolada de salames artesanais, do que em salames elaborados sem cultura *starter* e com uma cultura *starter* comercial de *Pedococcus* spp.

Tabela 4. Valores médios (\pm desvio padrão) de notas de aceitação sensorial para cor, aroma, sabor e textura dos salames.

	Controle	Tratamento 1	Tratamento 2
Cor	5,9 ± 0,85 ^a	5,6 ± 0,67 ^a	5,7 ± 0,73 ^a
Aroma	5,2 ± 1,06 ^a	5,0 ± 0,97 ^a	5,5 ± 0,88 ^a
Sabor	5,0 ± 0,31 ^b	5,0 ± 0,21 ^b	6,0 ± 0,45 ^a
Textura	5,2 ± 1,01 ^a	4,8 ± 1,28 ^a	4,95 ± 1,09 ^a

Médias acompanhadas pela mesma letra, na mesma linha, não apresentam diferença significativa ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey. Controle: sem inoculação de cultura *starter*; Tratamento 1: inoculado com *Pedococcus pentosaceus* e *Staphylococcus xylosum*; e Tratamento 2: inoculado com *Lactobacillus plantarum* fermentado em meio de cultura de plasma suíno e *Staphylococcus xylosum*.

4 Conclusão

O meio de cultura de plasma suíno pode ser considerado uma alternativa na produção comercial de BAL, uma vez que sua viabilidade foi verificada na produção de cultura *starter* com a cepa de *Lb. plantarum*. Desta maneira, é possível empregar o sangue suíno em larga escala, reduzindo assim o impacto ambiental causado por este resíduo altamente poluente, bem como diminuir custos de produção de culturas *starter* ácido lácticas.

Os salames elaborados com a cultura *starter* de *Lb. plantarum* isolada de salames artesanais e produzida em meio de cultura de plasma suíno apresentaram queda de pH significativamente maior, e menor valor de atividade de água que os demais tratamentos, garantindo maior segurança microbiológica. Além disso, a utilização de *Lb. plantarum* resultou numa melhora significativa do sabor dos salames.

Referências bibliográficas

- BACUS, J. Update: meat fermentation 1984. **Food Technology**, Chicago, v. 38, n. 6, p. 59-69, 1984.
- BARBOZA Y. et al. Development of a bovine plasma medium for propagation of lactobacilli. **J. Food Sci. Tech.**, Mysore, v. 34, n. 2, p. 261-263, 1997.
- BOZKURT H.; BAYRAM, M. Colour and textural attributes of sucuk during ripening. **Meat Science**, Oxon, v. 73, n. 2, p. 344-350, 2006.
- BUCKENHÜSKES, H. J. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as *starter* cultures for various food commodities. **FEMS Microbiology Reviews**, Amsterdam, v. 12, n. 1-3, p. 253-271, 1993.
- CHASCO, J.; LIZASO, G.; BERIAIN, M. J. Cured colour development during sausage processing. **Meat Science**, Oxon, v. 44, n. 3, p. 203-211, 1996.
- FLORES, J.; BERMELL, S. Dry-cured sausages – Factors influencing souring and their consequences. **Fleischwirtschaft**, Frankfurt, v. 76, n. 2, p. 163-165, 1996.
- GONZÁLES-FERNÁNDEZ, C. et al. Utilización de cultivos iniciadores en la elaboración de chorizo y su influencia en las propiedades sensoriales. **Food Science and Technology International**, London, v. 3, n. 1, p. 31-42, 1997.
- GONZÁLES-FERNÁNDEZ, C. et al. The effect of sugar concentration and *starter* culture on instrumental and sensory textural properties of chorizo-Spanish dry-cured sausage. **Meat Science**, Oxon, v. 74, n. 3, p. 467-475, 2006.
- HUGAS, M.; MONFORT, J. M. Bacterial *starter* cultures for meat fermentation. **Food Chemistry**, Oxon, v. 59, n. 4, p. 547-554, 1997.

10. HYUN, C. K.; SHIN, H. K. Utilization of bovine blood plasma obtained from a slaughterhouse for economic production of probiotics. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, Osaka, v. 86, n. 1, p. 34-37, 1998.
11. KAYAARDI, S.; GÖK, V. Effect of replacing beef fat with olive oil on quality characteristics of Turkish soudjouk (sucuk). **Meat Science**, Oxon, v. 66, n. 1, p. 249-257, 2003.
12. LEUSCHNER, R. G. K.; HAMMES, W. P. Tyramine degradation by micrococci during ripening of fermented sausage. **Meat Science**, Oxon, v. 49, n. 3, p. 289-296, 1998.
13. LIZASO, G.; CHASCO, J.; BERIAIN, M. J. Microbial and biochemical changes during ripening of salchichón, a Spanish dry cured sausage. **Food Microbiology**, London, v. 16, n. 3, p. 219-228, 1999.
14. LÜCKE, F. K. Fermented meat products. **Food Research International**, Amsterdam, v. 27, n. 3, p. 299-307, 1994.
15. _____. Fermented sausages. In: WOOD, B. J. B (Ed.) **Microbiology of fermented foods**. 2ª ed., London: Blackie Academy Professional, 1998, v. 2, p. 441-483.
16. MORAES, M. A. C. **Métodos para avaliação sensorial dos alimentos**, 6ª edição. Campinas: UNICAMP, 1988.
17. MOURE, F.; RENDUELES, M.; DÍAZ, M. Aprovechamiento del plasma procedente de sangre de mataderos. **Alimentaria**, Madrid, v. 36, n. 290, p. 41-50, 1998.
18. MUGUERZA, E. et al. Effect of fat level and partial replacement of pork backfat with olive oil on processing and quality characteristics of fermented sausages. **Meat Science**, Oxon, v. 61, n. 4, p. 397-404, 2002.
19. NASSU, R. T. **Utilização de carne de caprinos no processamento de embutido fermentado, tipo salame**. Campinas, 1999. 154p. Tese (Doutorado em Tecnologia dos Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).
20. NASSU, R. T.; GONÇALVES, L. A. G.; BESERRA, F. J. Utilização de diferentes culturas *starter* no processamento de embutido fermentado de carne de caprinos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 6, p. 1051-1055, 2002.
21. PALMFELDT, J.; HAHN – HÄGERDAL, B. Influence of culture pH on survival of *Lactobacillus reuteri* subjected to freeze-drying. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 55, n. 1-3, p. 235-238, 2000.
22. PEREZ-ALVAREZ, J. A.; SAYES-BARBARE, M. E.; FERNANDEZ-LOPEZ, J.; ARANDA-CATALA, V. Physicochemical characteristics of Spanish type dry-cured sausage. **Food Research International**, Amsterdam, v. 32, n. 9, p. 599-607, 1999.
23. RANTSIOU, K.; COCOLIN, L. New developments in the study of the microbiota of naturally fermented sausages as determined by molecular methods: A review. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 108, n. 2, p. 255-267, 2006.
24. ROIG-SAGUÉS, A. X. et al. Microbiological events during the elaboration of “fuet”, a Spanish ripened sausage. **European Food Research and Technology**, New York, v. 209, n. 2, p. 108-112, 1999.
25. ROSS, R.P.; MORGAN, S.; HILL, C. Preservation and fermentation: past, present and future. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 79, n. 1-2, p. 3-16, 2002.
26. RUST, R. E. Productos Embutidos. In: PRICE, J. F., SCHWEIGERT, B. S. (Ed) **Ciencia de La Carne y de Productos Cárnicos**. 2ª ed. Zaragoza: Acríbia, 1994, p. 415-440.
27. SAS. **Sas Institute Inc**. Cary, NC, 1996.
28. SAWITZKI, M. C. **Caracterização de bactérias ácido lácticas isoladas de salames artesanais e aplicadas como cultivos iniciadores em salame tipo Italiano**. Santa Maria, 2000. 60 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).
29. SIQUEIRA, S. **Manual de microbiologia de alimentos**, 1ª edição. Brasília: EMBRAPA, 1995.
30. TERRA, N. N. **Apontamentos de tecnologia de carnes**, 1ª edição. São Leopoldo: UNISINOS, 1998.
31. TERRA, N. N.; BRUM, M. A. R. **Carne e seus derivados – técnicas de controle de qualidade**, 1ª edição. São Paulo: NOBEL, 1988.