

Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo
9:93-106, 1972

FLORA CONTAMINANTE DOS PRODUTOS EMBUTIDOS DE CARNE, TIPO
SALAME, COM ESPECIAL REFERÊNCIA AOS MICRORGANISMOS DO
GÊNERO *LACTOBACILLUS* (BEIJERINCK, 1901)

Raphael Valentino RICCETTI *
Omar J. Marzagão BARBUTO **
José Cezar PANETTA ***

RFMVA-7

RICCETTI, R. V. et al. — *Flora contaminante dos produtos embutidos de carne, tipo salame, com especial referência aos microrganismos do gênero Lactobacillus (Beijerinck, 1901)*. Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo, 9:93-106, 1972.

RESUMO — Contribuindo para o estudo da flora contaminante dos produtos embutidos de carne, especialmente daqueles classificados como salames, os Autores pesquisaram os germes pertencentes aos gêneros *Micrococcus* e *Lactobacillus*, considerados de importância no processo de maturação desses alimentos. Foram estabelecidas, entre outras condições: 1.ª) a evolução numérica desses microrganismos nas várias etapas de maturação; 2.ª) a supremacia das espécies desses gêneros; 3.ª) o ótimo de temperatura, considerado simultaneamente com o comportamento bioquímico da maioria das cepas.

UNITERMOS: Salame; embutidos * "*Lactobacillus*"; Maturação *.

1. INTRODUÇÃO

A flora microbiana existente nos produtos cárneos embutidos possui relevante papel de ordem tecnológica e higiênico-sanitária, pois, como é sabido, o seu controle quantitativo e qualitativo assegura, além de um excelente produto, no que diz respeito às suas qualidades físico-organolépti-

cas, um produto de elevadas propriedades higiênicas. Dessarte, existe, como facilmente se depreende, uma grande interrelação entre os fatores tecnológico e higiênico-sanitário da produção, nunca podendo haver superação de um em detrimento do outro; efetivamente, a somatória desses fatores assegurarão produtos de ótima qualidade e isentos de problemas pertinentes à saúde pública. Tal correlação é perfeitamente caracterizada, quando se estuda a microbiologia dos produtos cárneos embutidos, particularmente daqueles cuja tecnologia implica numa longa maturação, como é o caso dos salames de modo geral, nos quais, a par de agentes microbianos patogênicos, constata-se a presença de germes banais, além de uma flora extremamente útil no que respeita ao seu número e, principalmente, pelas suas ações metabólicas, que redundam na obtenção de produtos finais com específicas características de gosto, odor, textura e conservação.

Portanto, sumamente importantes para o aperfeiçoamento tecnológico e higiênico-sanitário dos produtos cárneos embutidos, são os estudos em torno da flora microbiana que eventualmente pode contaminá-los ou que a eles, propositadamente, seja adicionada com a finalidade de se obter adequada maturação.

- * Professor Assistente.
- ** Professor-Livre-Docente.
- *** Professor-Assistente-Doutor.

Departamento de Medicina Preventiva e Saúde Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

Assim, os números, as espécies, as predominâncias e a seleção dos microrganismos que habitam tais produtos, são informações que forçosamente devem ser procuradas e pesquisadas, quando se pretende evoluir nesse campo da industrialização da carne.

Um fato bastante conhecido, compreendido facilmente ao compulsar-se a literatura especializada, é o de existir, durante a maturação dos produtos, verdadeira seleção, iniciando-se com grande e variada população microbiana, para um posterior processo regressivo de determinadas espécies e um aumento pronunciado de outras. Estabelece-se, dessa forma, verdadeira competição entre as espécies, representadas, no início, por microflora heterogênea e que, depois, vai sendo substituída por uma flora mais específica, a qual culmina, devido a uma série de transformações metabólicas, bioquímicas e ambientais, na existência, quase que exclusiva, de representantes de dois importantes generos: *MICROCOCOCCUS* e *LACTOBACILLUS*.

Deve-se notar, entretanto, que a presença de *LACTOBACILLUS* sp., somente se torna útil, caso o seu número não supere certos limites; quando a quantidade dessas bactérias supera o limite de 1 milhão/grama, forma-se uma quantidade excessiva de ácido láctico, o que leva o produto a apresentar alterações de gosto. Os principais responsáveis por essa acidificação exagerada são as cepas homo-fermentativas fortemente acidificantes de *LACTOBACILLUS* sp.. Mas, é importante também assinalar que os *LACTOBACILLUS* estão sempre presentes nos produtos cárneos embutidos, constituindo-se em habitantes normais desses produtos, motivo pelo qual, cuidados higiênico-sanitários especiais devem ser tomados nos estabelecimentos produtores, por não se poder, simplesmente, preconizar a eliminação total das bactérias existentes nos locais de manipulação dos produtos cárneos pois, como parece demonstrado, se algumas bactérias têm importância no processo de maturação, é óbvio que devam ser tomadas medidas de caráter higiênico, a fim de evitar excessiva contaminação.

Porém, a maior importância do perfeito conhecimento dessa flora, para fins industriais, ao lado do controle higiênico-sanitário, é a tentativa de se produzir, em futuro próximo, "starters" de culturas puras dos germes citados, o que possibilitará a elaboração de produtos sob condições constantes e, portanto, de qualidade maior.

Buscou-se no presente trabalho, colaborar para o aprimoramento e padronização das técnicas de maturação, tendo em vista, principalmente, a quantidade do produto elaborado, a diminuição do tempo de maturação e a melhoria das condições higiênico-sanitárias de fabricação das substâncias elaboradas. A diminuição do tempo de maturação, além de produzir vantagem econômica visa, aliada à modernização da técnica, introduzir processos de maturação mais adequados e melhor controlados, tentando-se, assim, eliminar certos procedimentos empíricos e tradicionais.

É bem verdade que os procedimentos tradicionais de elaboração e tratamento dos produtos embutidos, bem como de outros produtos cárneos, sofreram influência fundamental com o avanço tecnológico da indústria. Porém, muito embora arraigados a uma mecânica rudimentar, que envolvia, automaticamente, um rendimento baixo, esses procedimentos eram caracterizados por uma qualidade relativamente alta, situação esta contrastante com a mecânica atual, qual seja, a de um alto rendimento industrial, para fazer frente aos requisitos de mercado, mas pecando pela qualidade, que já não pode acompanhar o grau de rendimento. Não seria, pois, exagero afirmar-se que à medida que foram se aperfeiçoando os sistemas de fabricação dos produtos embutidos, automaticamente, dentro de certos limites, foi baixando a sua qualidade, sem que deva ser responsabilizada exclusivamente a indústria por esta situação, mas a um conjunto de fatores econômicos, sociais e ambientais, que levaram a indústria a se preocupar mais com a quantidade do que com a qualidade.

Portanto, são altamente valiosos os estudos que visam a melhoria da qualidade dos

produtos cárneos embutidos, no afã de se atender, a um tempo, a preocupação da indústria em produzir cada vez mais, para atender aos mercados consumidores, como também salvaguardar a qualidade dos produtos, a ponto de não ameaçar o seu padrão, pela exagerada preocupação de simplesmente produzir.

Tais estudos devem prender-se, primeiramente, a um melhor conhecimento dos produtos elaborados, no que diz respeito à sua tecnologia, à sua conservação e, principalmente, à sua maturação. Inserido neste avanço e tendo-se levado em conta todos os fatores acima descritos, objetivou-se, neste trabalho, reunir dados concernentes aos gêneros e, na medida do possível, às espécies ligadas aos fenômenos expostos, primeiro passo para um estudo mais aprofundado. Com tal finalidade, procurou-se estabelecer os gradientes de contaminação de um produto típico (salame, tipo salaminho), desde o momento da elaboração, até uma idade de 60 dias, com intervalos compreendidos de 10 em 10 dias, mantidos em ambiente de maturação. Paralelamente, procurou-se identificar morfológica *LACTOBACILLUS* e *MICROCOCCUS*, durante as variadas fases de maturação. Tentou-se, ainda, a identificação de algumas espécies do gênero *LACTOBACILLUS*, considerado de grande importância no processo biológico da maturação.

2. LITERATURA

As modificações organolépticas provenientes do metabolismo bioquímico da flora bacteriana útil dos produtos embutidos de longa "cura", é de notável importância e tem sido motivo de estudos, por parte de inúmeros pesquisadores. Buscando aprofundar-se no assunto GIANELLI⁶ (1953), revelou que a microflora dos produtos embutidos (salame tipo Milano), atinge a um máximo entre os 18 e 27 dias de maturação, para depois decrescer ao redor do 54.º dia, presumivelmente devido à perda da umidade do produto. Aliás, de grande importância é o estudo de GIANELLI⁶ (1953),

no que respeita ao comportamento das bactérias do grupo COLI-AEROGENES: inicialmente seu número é grande, sofrendo, em seguida, brusca queda ao redor do 8.º dia, não sendo mais encontrados depois de 16 dias de maturação, situação esta, provocada pela seleção natural que se processa no produto durante sua "cura".

Por outro lado, CORETTI et col.³ (1956), demonstraram cabalmente que no início da maturação, a população microbiana dos produtos embutidos é constituída quase que totalmente por *MICROCOCCUS* sp., havendo, com o passar do tempo, um decréscimo destes e um aumento progressivo das bactérias do gênero *LACTOBACILLUS*.

Também NIINIVARA & POHJA¹¹ (1964), ao estudarem o processo de maturação dos embutidos, isolaram de salsichas defumadas numerosas cepas e notaram prevalência inicial de *MICROCOCCUS*, que foram substituídos, com o tempo de maturação, por cepas de *LACTOBACILLUS* sem haver, entretanto, grande diminuição da carga bacteriana total. Por outro lado, constataram estes autores, a importância do conhecimento destes germes tanto na maturação como no aspecto higiênico-sanitário dos produtos, propondo com vantagens o seu uso, como "starters". Ainda com o mesmo propósito GIOLITTI⁷ (1960), revelou que, no início da maturação, logo após o produto ser elaborado, existe uma flora heterogênea, composta de bactérias das mais variadas espécies que invadem a massa dos embutidos em consequência das manipulações tecnológicas a que estes são submetidos; no período inicial da maturação, as condições ambientais são extremamente favoráveis ao desenvolvimento desta flora que, encontrando condições ótimas de umidade e elementos nutritivos, multiplica-se com grande intensidade. Concomitantemente a essas bactérias inespecíficas, uma flora específica, no início mascarada pelo crescimento da primeira, começa a evidenciar-se de forma mais nítida, devido às mudanças de crescimento que se alteram com o decorrer da maturação, ou seja, diminuição da umidade

e conseqüente aumento da concentração de cloreto de sódio.

Estudo paralelo e relevante é o de GIOLITTI & MASSACRA⁹ (1963), que concluem ser a produção do aroma devida principalmente a um processo de degradação de origem bacteriana, das gorduras presentes na massa. Segundo esses autores, os MICROCOCUS, escassos ao início e aumentando notadamente com o decorrer da maturação, atuam principalmente desdobrando as gorduras em ácidos graxos, além de atuarem fornecendo fatores de crescimento, indispensáveis para os LACTOBACILLUS se multiplicarem com mais facilidade. Enfim, a presença de ácidos graxos livres e o aumento da concentração salina, provocam um efeito inibidor sobre a multiplicação de germes GRAM negativos, predominantes no início. É importante relacionar esses dados com o de SHARPE¹⁴ (1966), que observou a ação dos LACTOBACILLUS na carne, verificando sua adaptação à concentrações elevadas de cloreto de sódio e às baixas temperaturas. Além disso, constatou que a elevada concentração de cloreto de sódio favorece diretamente a multiplicação dos LACTOBACILLUS halotolerantes e, ao mesmo tempo, inibe o crescimento de outras bactérias que poderão obstar o desenvolvimento dos primeiros; o ácido láctico que é produzido pelas cepas homofermentativas do LACTOBACILLUS faz baixar o pH, eliminando, assim, as bactérias não acidófilas e levando ao estabelecimento de uma flora bacteriana constituída principalmente de LACTOBACILLUS. O próprio SHARPE & FRYER¹⁴ (1966), verificou que a produção de pequenas quantidades de ácido láctico, contribui para conferir ao produto um odor típico e agradável sabor; foi observado, também, que adicionando-se à massa do produto culturas "starters" de LACTOBACILLUS (*plantarum*, *brevis*, *fermenti*), o produto adquire melhor qualidade e seu tempo de maturação é diminuído.

Sobre como estas bactérias chegam ao produto, existem várias teorias: a hipótese de que os LACTOBACILLUS chegam à car-

ne dos suínos através do intestino pode ser afastada, segundo MASCHERPA¹¹ (1965), tendo em vista que os LACTOBACILLUS isolados do tubo digestivo de suínos não resistem às concentrações mais elevadas de NaCl; o mais provável, segundo ele, é que estas bactérias chegam aos produtos provenientes de contaminação externa, pois existem no solo, na água, no ar e nas plantas e, encontrando condições adequadas, desenvolvem-se rapidamente.

Certo é, entretanto, que não só germes dos gêneros LACTOBACILLUS e MICROCOCUS, possuem relevante importância nos fenômenos metabólicos que se desenvolvem durante a maturação de produtos cárneos, mas também outros desempenham papel de relevo, tendo sido pesquisados no sentido de serem adicionados à massa dos embutidos, em culturas puras. Nesse sentido, DEIBEL⁴ & NIVEN (1957), estudaram o comportamento de espécies de PEDIOCOCUS (*Pediococcus cerevisiae*) e verificaram sua atuação na cura de salsichas, propugnando pela utilização desses germes, associados a outros, com o propósito do estabelecimento de culturas "starters".

O gênero PEDIOCOCUS tem, pois, influência decisiva sobre as transformações metabólicas na fase de maturação dos produtos cárneos, sendo exclusivamente pesquisada essa propriedade, como comprovam os trabalhos de PEDERSON¹³ (1949); DELWICHE⁵ (1958); e GUNTHER (1959).

Por outro lado, CATE² (1960), assinalou a presença e a importância do STREPTOCOCCUS sp., até o 16.º-18.º dia de maturação, concluindo que a principal ação correlaciona-se à produção do aroma que caracteriza os produtos.

Mas, como referimos anteriormente, não só o aspecto tecnológico deve merecer atenção; o de saúde pública destaca-se, por vezes, como assinala GIANELLI⁶ (1963), que preocupou-se, além da presença de elementos do grupo coli, com a presença de germes patogênicos, chegando mesmo à identificação de representantes do gênero STAPHYLOCOCCUS nos produtos embutidos.

Pode-se daí, aquilatar a flagrante complexidade que envolve o problema da maturação dos produtos cárneos embutidos, tanto no que diz respeito às alterações inerentes a contaminação do produto como, e principalmente, no relativo à variada gama de fenômenos bioquímicos provenientes da intervenção de elevado número de espécies microbianas, do meio ambiente, dos fatores físicos e químicos, aliados, por sua vez, à variada composição da matéria-prima.

Todos esses fenômenos, agravados, de um lado, pelos inúmeros fatores que os modificam e, por outro, pelo fato de se processarem simultaneamente, justificam a preocupação de higienistas e tecnologistas no que concerne à elaboração de produtos embutidos de carne, razões que nos moveram a tentar colaborar para o enriquecimento da literatura nacional especializada nesse assunto.

3. MATERIAL E MÉTODOS

A amostragem para o presente trabalho foi representada por um embutido de carne, de fabricação típica, cuja matéria-prima é constituída por carne de suíno e conhecido no comércio pela denominação de salame tipo salaminho. O produto era remetido de um frigorífico situado na cidade de Erechim, RGS, através do Serviço de Inspeção Federal, de tal sorte que as amostras chegadas ao laboratório tinham sempre a mesma idade. Para efeito de homogeneização das amostras, estabeleceu-se a primeira semeadura sempre no quinto dia de idade das mesmas. Para se calcular a evolução da flora bacteriana total, ao longo do período de maturação, foi necessário remeter as amostras sempre em sextuplicatas, as quais pertenciam, rigorosamente, à mesma partida. Foram efetuadas dez coletas, num espaço de tempo, da primeira à décima, de 22 meses, realizadas nas datas abaixo discriminadas:

Coleta	N.º de Peças	Data da chegada ao laboratório
1.a	6 salaminhos	3- 5-68
2.a	6 salaminhos	7- 7-68
3.a	6 salaminhos	5- 9-68
4.a	6 salaminhos	6-11-68
5.a	6 salaminhos	8- 1-69
6.a	6 salaminhos	5- 3-69
7.a	6 salaminhos	5- 5-69
8.a	6 salaminhos	2- 7-69
9.a	6 salaminhos	3- 9-69
10.a	6 salaminhos	6-11-69

De cada coleta, composta por 6 salaminhos, eram efetuadas 6 (seis) sementeiras, aos 5, 10, 20, 30, 40 e 50 dias, seguindo-se a técnica habitualmente utilizada para o controle bacteriológico de produtos embutidos, ou seja, o primeiro salaminho era assepticamente incisado transversalmente ao meio, e retiradas pequenas porções do centro, num peso constante de 10 gramas, transportadas para um corpo de liquidificador que continha 90 ml de soluto fisiológico esterilizado. Mantinha-se sob trituração por três minutos e, imediatamente, procediam-se a diluições do material. Eram semeadas triplicatas de placas, no meio de CORETTI & SOMOGYI³ (1965), cuja fórmula percentual é a seguinte:

0,8 g	Peptona de Caseína
0,8 g	Peptona de Carne
0,6 g	Extrato de Levedura
0,1 ml	Tween 80
2,0 g	Glucose
0,05	de Amido solúvel
0,5 g	de Cloreto de Sódio
0,003g	Sulfato de Manganês
0,06 g	Sulfato de Magnésio
0,5 g	Acetato de Sódio
1,6 g	Agar
100 ml	Água destilada

Prontas as sementeiras, as placas eram transportadas para estufas a 37°C, por 48 horas, prazo após o qual registrava-se a contagem global de germes, utilizando-se o contador de colônias tipos "Spencer" e computando-se pela média logarítmica.

Das placas contáveis, era extraído um número de colônias correspondente à raiz quadrada do total das mesmas, e repicadas isoladamente em meio de CORETTI & SOMOGYI³ (1965), líquido, cuja fórmula é a mesma do meio sólido, somente com ausência do agar. Dos tubos que apresentavam turvação, eram confeccionadas lâminas, coradas pelo método de GRAM, com a finalidade de identificar-se morfológicamente formas bacterianas bacilares e formas bacterianas cocóides. No 40.º dia do período de maturação, os tubos que haviam apresentado crescimento e identificados através das lâminas, como contendo representantes de formas bacilares, eram re-isolados (15 por amostra), incubados a temperaturas de 10, 20, 30, 37, 40 e 45°C, com intuito de classificar, através de seu ótimo de temperatura, LACTOBACILLUS dos grupos BETABACTERIUM, STREPTOBACTE-

RIUM e THERMOBACTERIUM, conforme classificação proposta por ORLA-JENSEN¹² (1931). Uma vez definido este grupo, procediam-se às provas bioquímicas mais específicas, para uma tentativa de identificação de espécie. Os substratos utilizados foram compostos por Litmus-Milk, Nitrato, NaCl 2%, NaCl 4%; NaCl 6%, NaCl 8%, Teepoll 0,4%, Adonita, Arabinose, Celobiose, Dulcita, Galactose, Glicose, Inosita, Inulina, Lactose, Levulose, Maltose, Manita, D. manose, Melebiose melezitose, Rafinose, Ramnose, Sacarose, Salicina, Sorbita, Xilose e Arginina, cujos resultados encontram-se nas Figuras números 7 e 8.

4. RESULTADOS

Os primeiros resultados a serem considerados, referem-se ao gradiente da flora bacteriana total aeróbica facultativa, ao longo do período de maturação. Esses dados compõem as Figuras n.ºs 1, 2 e 3. Relativamente ao encontro percentual de cocos e bacilos, durante as fases de maturação estudadas, as Figuras 4 e 5 evidenciam tais eventos.

FIGURA N.º 1 — Cômputo global de bactérias aeróbias facultativas (a 37°C) por grama, segundo a evolução do período de maturação.

* cont. global n.º de amostras	5	10	20	30	40	50
1	8,5 × 10 ⁴	400 × 10 ⁴	13 × 10 ⁶	125 × 10 ⁷	108,3 × 10 ⁸	71,3 × 10 ⁷
2	7 × 10 ⁵	419,3 × 10 ⁵	15,3 × 10 ⁷	330,5 × 10 ⁸	254,7 × 10 ⁸	69,3 × 10 ⁸
3	7,8 × 10 ⁵	27 × 10 ⁶	117,1 × 10 ⁶	192 × 10 ⁸	351,6 × 10 ⁸	13 × 10 ⁹
4	11 × 10 ⁵	38 × 10 ⁶	301,5 × 10 ⁶	220 × 10 ⁸	9,7 × 10 ⁹	142,3 × 10 ⁷
6	13,1 × 10 ⁵	55 × 10 ⁷	15,4 × 10 ⁷	221,8 × 10 ⁸	415,3 × 10 ⁷	251,4 × 10 ⁷
5	9,3 × 10 ⁵	592,4 × 10 ⁶	19,6 × 10 ⁷	1,8 × 10 ⁹	98,2 × 10 ⁸	327,1 × 10 ⁷
7	6,6 × 10 ⁵	39 × 10 ⁷	21,3 × 10 ⁷	2,5 × 10 ⁹	76,3 × 10 ⁸	327,2 × 10 ⁸
8	110 × 10 ⁴	63 × 10 ⁶	103,9 × 10 ⁶	13 × 10 ⁹	51,2 × 10 ⁸	191,5 × 10 ⁷
9	320 × 10 ⁴	22,5 × 10 ⁶	8,8 × 10 ⁷	505,7 × 10 ⁸	125,3 × 10 ⁸	308 × 10 ⁷
10	15,2 × 10 ⁵	115 × 10 ⁶	9,3 × 10 ⁷	499,3 × 10 ⁸	201,7 × 10 ⁸	219 × 10 ⁷

* Contagem global bactérias grama/dias de maturação.

RICCETTI, R. V. et al. — Flora contaminante dos produtos embutidos de carne, tipo salame, com especial referência aos microrganismos do gênero *Lactobacillus* (Beijerinck, 1901) *Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, 9:93-106, 1972.

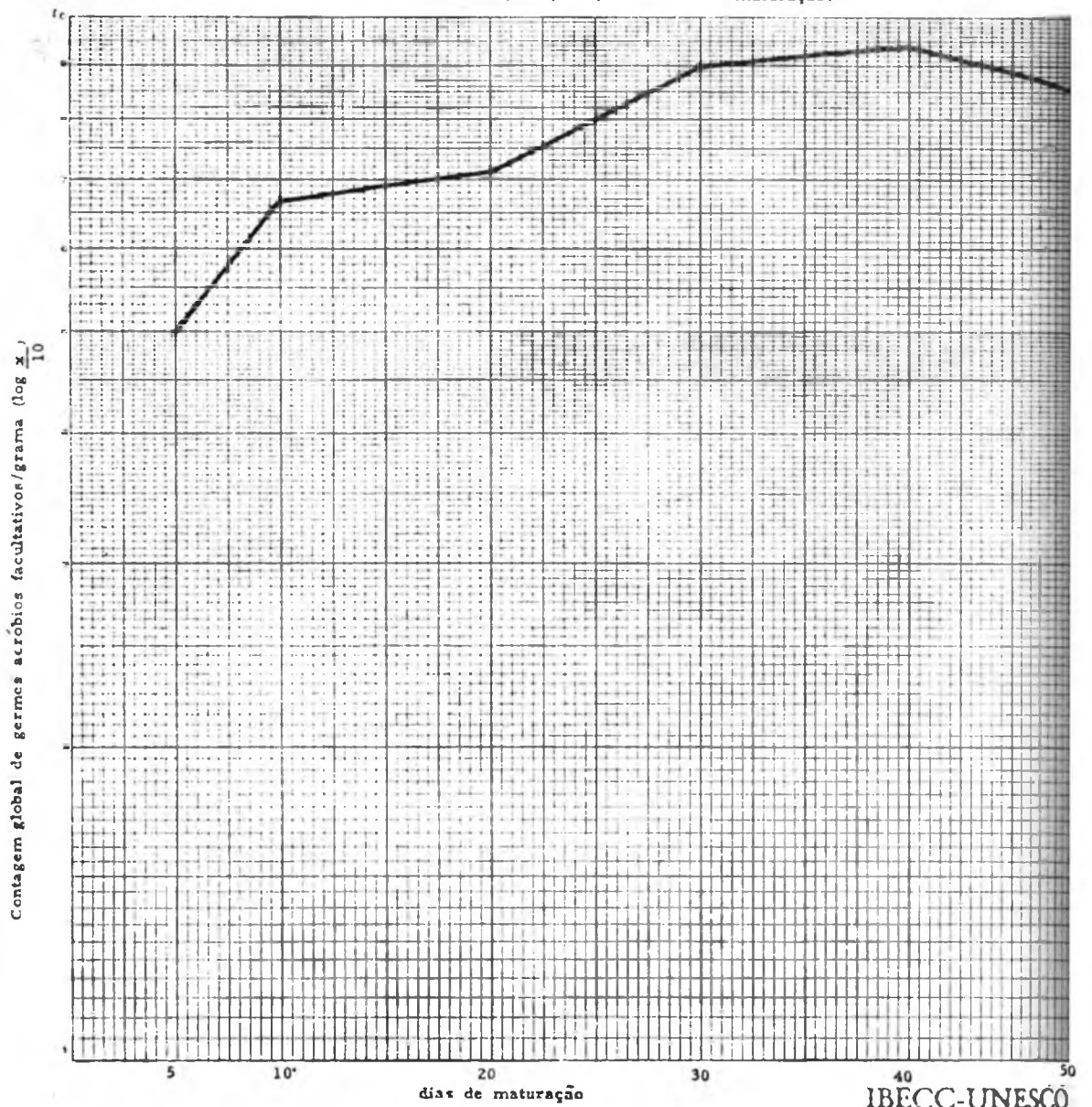
FIGURA N.º 2 — Valores medianos ($\times/10$) e correspondentes logarítmicos, referentes à quantidade global de germes aeróbios facultativos (figura n.º 1), segundo a evolução do período de maturação

Contagem global bact/g	Medianas (x)	Medianas: 10 (x/10)	Log. x/10
Dias			
5	1.015.000	101.500	5,00647
10	48.465.000	4.846.500	6,68538
20	135.050.000	13.505.000	7,13033
30	10.325.000.000	1.032.500.000	9,01368
40	20.600.000.000	2.060.000.000	9,31175
50	2.052.500.000	205.250.000	8,31218

O ótimo de temperatura pesquisado para as formas bacilares, isoladas à partir de 40.º dia de maturação, aparece ilustrado na Figura n.º 6.

A análise das cepas isoladas, realizada com o intuito de identificá-las quanto ao seu bioquimismo foi efetuada conforme descrito no capítulo de Material e Métodos e apresentaram os resultados constantes das Figuras n.ºs 7 e 8.

FIGURA Nº 3 - Contagem global de germes aerobios facultativos, por grama ($\log \frac{x}{10}$), segundo 17.
o 5º, 10º, 20º, 30º, 40º, 50 º dias de maturação.

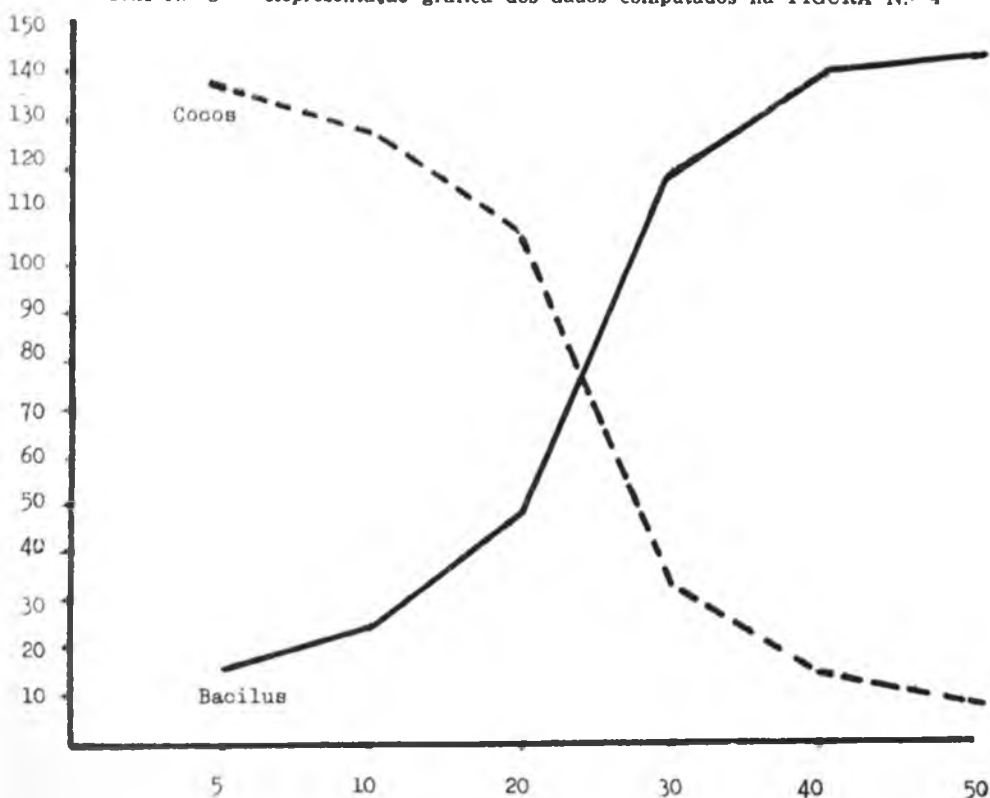


RICCETTI, R. V. et al. — Flora contaminante dos produtos embutidos de carne, tipo salame, com especial referência aos microrganismos do gênero *Lactobacillus* (Beljerinck, 1901) *Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, 9:93-106, 1972.

FIGURA N.º 4 — Número de lâminas estudadas de 10 diferentes amostras de salame (tipo salaminho), segundo período de maturação e o correspondente encontro de formas cocóides ou bacilares.

Dias amostras	5		10		20		30		40		50	
	C	B	C	B	C	B	C	B	C	B	C	B
1	9	6	8	7	2	13	1	14	-	15	-	15
2	12	3	10	5	3	12	-	15	-	15	-	15
3	10	5	11	4	1	14	2	13	1	14	-	15
4	13	2	10	5	-	15	-	15	-	15	-	15
5	12	3	9	6	2	13	-	15	1	14	-	15
6	11	4	7	8	1	14	1	14	-	15	-	1
7	15	-	8	7	4	11	-	15	-	15	-	1
8	14	1	5	10	3	12	3	12	2	13	-	16
9	12	3	13	2	2	13	-	15	1	14	-	5
10	14	1	9	6	4	11	2	13	-	15	-	5

FIGURA N.º 5 — Representação gráfica dos dados computados na FIGURA N.º 4



F.M.V.Z. USP.

RICCETTI, R. V. et al. — Flora contaminante dos produtos embutidos de carne, tipo salame, com especial referência aos microrganismos do gênero *Lactobacillus* (Beijerinck, 1901) *Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, 8:93-106, 1972.

FIGURA N.º 6 — Ótimo de temperatura referente às formas bacilares isoladas à partir do 40.º dia de maturação. — 24 hs.

Temperatura n.º de cepas	15 ^o C	30 ^o C	37 ^o C	40 ^o C	45 ^o C
129	++	+++	+++	+++	-
4	-	++	+++	+++	+++
2	-	++	+++	+++	±

Legenda: +++ ótimo
 ++ bom
 ± regular

FIGURA N.º 7 — Caracterização das cepas isoladas a partir do 40.º dia de maturação, quando submetidas a diferentes substratos. A coloração de GRAM, as referidas amostras mostraram-se todas como GRAM positivo.

amostra cepas	A ₁		A ₂		A ₃		A ₄		A ₅		A ₆		A ₇		A ₈		A ₉		A ₁₀		
	130	41	127	62	132	21	129	6	131	4	135	134	1	133	2	130	5	127	7	1	
Substratos	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Catalase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Litmus-Milk	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nitrato	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NaCl 2%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NaCl 4%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NaCl 6%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NaCl 8%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Teepoll 0,4%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

FIGURA Nº 8 — Comportamento bioquímico frente a diferentes tipos de açúcares, das cepas isoladas a partir do 40.º dia de maturação, segundo 10 diferentes amostras de salame tipo salaminho.

amostra cepas	A1		A2		A3		A4		A5		A6		A7		A8		A9		A10										
	73	30	32	68	51	16	101	21	13	96	28	11	108	17	10	125	7	126	6	3	119	10	6	131	3	1	115	15	5
Substratos	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Adonita	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Arabinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Celobiose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dulcita	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Galactose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glicose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Inosita	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Inulina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lactose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Levulose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Maltose	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Manita	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D. Manose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Melebiose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Melezitose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rafinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ramnose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sacarose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Salicina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sorbita	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Xilose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Arginina	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

5. DISCUSSÃO

Parece, pelo que ficou demonstrado nos capítulos anteriores, constatada a importância do conhecimento das espécies úteis que ocorrem nos produtos embutidos e, particularmente, sua atuação específica sobre os substratos bioquímicos desses produtos, originando transformações que culminam com o estabelecimento de sabor, aroma e textura específicos, que qualificam tecnológica e sanitariamente tais alimentos. É fundamental esse conhecimento no que concerne aos achados em nosso ambiente, pois como parece comprovado, a ocorrência de diversas espécies microbianas nesse tipo de alimento, tanto pode melhorá-lo, como piorá-lo, na dependência das estirpes envolvidas e do seu número.

A presença de *LACTOBACILLUS* nos produtos citados, dentro de certos limites, parece ser sempre benéfica, pois é responsável pelas características tão ansiosamente procuradas pelo consumidor, quais sejam, o sabor, o aroma e a textura. MASCHERPA¹⁰ (1965).

Neste sentido, dois aspectos devem ser considerados. Um, de ordem higiênica e outro de ordem tecnológica, pois é sabido que contaminações excessivas por germes banais têm a propriedade de dificultar a multiplicação de representantes do gênero *LACTOBACILLUS*. Este fato é facilmente caracterizado, se estudarmos, à luz dos dados fornecidos por autores estrangeiros GIOLITTI & MASCHERPA⁹ (1965), os nossos, no que concerne à evolução do desenvolvimento de *LACTOBACILLUS*. Quando a contaminação é baixa, verifica-se que o ápice da quantidade desses microrganismos é muito mais rapidamente atingido do que quando a contaminação é elevada. Ora, isto envolve um problema tecnológico, pois se os *LACTOBACILLUS* custam a se desenvolver e atingir o ápice, isto significa que o período de maturação se prolongará demasiadamente, consumindo um período de tempo precioso, quando considerado o problema do ângulo econômico.

Nesse sentido é importante considerar os estudos de MASCHERPA¹¹ (1965), o qual, ao analisar o fato citado, conclui que o cume do desenvolvimento de *LACTOBACILLUS* é atingido ao redor do 30.º dia de maturação, ao passo que em nosso meio esse ponto é alcançado como comprova a figura n.º 5, somente ao redor do 50.º dia de maturação. Ora, o período de tempo correspondente a essa diferença representa, em última análise, dois problemas graves; de um lado a permanência inútil do produto em câmaras de maturação, quando ele poderia ser dado ao consumo muito mais rapidamente e outro, o que é mais importante, o fato envolve, dedutivamente, um problema higiênico dos mais sérios, pois esse prolongamento da maturação evidencia uma excessiva contaminação por germes inúteis, angariados nas diversas fases de manipulação.

Ora, a adição de "starters" de culturas puras de *LACTOBACILLUS*, no momento da elaboração dos produtos, vem fatalmente reduzir, através do estabelecimento da concorrência vital entre os microrganismos, o período de maturação dos produtos através da eliminação de concorrentes inúteis. Mas, para que seja viável tal situação, é necessário estabelecer espécies de *LACTOBACILLUS* mais frequentemente detectadas nos produtos nacionais já que existe uma variedade muito grande desses germes, os quais possuem comportamento bioquímico altamente complexo. As tentativas que fizemos para o estabelecimento da identificação dessas espécies, talvez colabore para estudos futuros mais detalhados sobre esse genero.

6. CONCLUSÕES

1. Os logarítimos (x/10), correspondentes aos números bacterianos totais por grama, encontrados no 5.º, 10.º, 20.º, 30.º, 50.º dia de maturação de salames tipo salaminho correspondem, respectivamente, a 5,00647; 6,68538; 7,13033; 9,01368; 9,31175 e 8,31218.

2. A partir do 10.º dia de maturação, é evidente um decréscimo pronunciado das formas cocóides e uma ascensão simultânea das formas bacilares, que atingem um máximo de desenvolvimento ao redor do 50.º dia de maturação.

3. 129 das 135 cepas estudadas apresentaram um ótimo de temperatura entre 30°C e 40°C, apresentando crescimento maior a 15°C e ausência de crescimento a 45°C, fato que, segundo ORLA-JENSEN¹² (1931), identifica-as com pertencentes ao grupo STREPTOBACTERIUM.

4. O ótimo de temperatura, considerado simultaneamente com o comportamento bioquímico da maioria das cepas estudadas, parece indicar a supremacia, respectivamente, das espécies CASEI var. ALACTOSUS e PLANTARUM.

5. Dada a complexidade do comportamento bioquímico das espécies do gênero LACTOBACILLUS, impõe-se um estudo mais detalhado acerca de suas características frente a diferentes substratos, para uma perfeita identificação das espécies.

RFMVA-7

RICCETTI, R. V. et al. — *Subsides to the knowledge of the useful flora responsible for the maturation of sausage products, of the salame type.* *Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, 9:93-106, 1972.

SUMMARY — *Contributing to the study of the contaminating flora of meat products, specially those classified as salami, the authors studied the microrganisms belonging to the genus Micrococcus and Lactobacillus, considered important to thematuration's process of these products. Among other conditions it was established: 1) the numerical evolution of these microrganisms during the different steps of maturation, 2) the preponderance of the species of these genus, 3) the ideal temperature, considered simultaneously with the biochemical behaviour of the strains' majority.*

UNITERMS: *Salame**; *Sausagé**; *Maturation**.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BREED, R. S. et al. — *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 7th ed. Baltimore, Williams & Wilkins Co., 1957.
2. CATE L., T. — apud GIOLITTI, G. & MASSACRA, G.º p. 542.
3. CORETTI, K. & SOMOGYI, A. — Manganese sulphate-sodium acetate medium for culturing differentiation of lactobacilli in foods. *Fleischwirtschaft*, 45 (5):476-82, 1965.
4. DEIBEL, R. H. & NIVEN, C. F. — *Pediococcus cerviseae* a starter culture for summer sausage. *Bact. Proc.*: 14-5, 1957.
5. DELWICHE, E. A. — Catalase of *Pediococcus cerviseae*. *J. Bact.*, 81(3):416-8, 1961.
6. GIANELLI, F. — Ricerche e considerazione sulla carica batterica dell'impasto di salame tipo felino durante la stagionatura. *Atti Soc. Ital. Sci. vet.*, 7:631-63, 1953.
7. GIOLITTI, G. — Ricerche sul processo di maturazione degli insaccati. *Arch. vet. ital.*, 11(1-2):23-31, 1960.
8. GIOLITTI, G. & MASSACRA, G. — Ricerche sulla flora microbica degli insaccati. *Atti Soc. Ital. Sci. vet.*, 17: 541-6, 1963.
9. GUNTHER, H. L. — Mode of division of *Pediococcus*. *Nature*, (Lond.), 183: 903, 1959.
10. MASCHERPA, G. — I lattobacilli degli insaccati stagionati. *Arch. vet. ital.*, 16(2):105-16, 1965.
11. NIINIVARA & POIJA apud DEIBEL, R. H. et al. — Microbiology of meat wering. IV A lyophilized *Pediococcus cerviseae* stater culture for fermented sausage. *Appl. Microbiol.*, 9:243, 1961.
12. ORLA-JENSEN — *Dairy bacteriology*. 2th ed. London, J. & A. Churchill, 1931.
13. PEDERSON, C. S. — The genus *Pediococcus*. *Bact. Rev.*, 13(1):225-32, 1949.
14. SHARPE, M. E. & FRYER, T. F. — Identification methods for microbiologists identification of the lactic acid bacteria. London, Sld. (Society for Applied Bacteriology Technical. Series, 1).

Recebido para publicação em 2-8-72

Aprovado para publicação em 3-10-72