

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO RIO GRANDE DO SUL
UNIDADE UNIVERSITÁRIA EM CRUZ ALTA
BACHARELADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

HENRI BARON JÚNIOR

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE SALAMES COLONIAIS
COMERCIALIZADOS NA CIDADE DE PANAMBI-RS**

CRUZ ALTA

2022

HENRI BARON JÚNIOR

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE SALAMES COLONIAIS
COMERCIALIZADOS NA CIDADE DE PANAMBI-RS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Estadual do Rio Grande do Sul.

Orientador (a): Dra. Juliana de Mello Silva

CRUZ ALTA

2022

Catálogo de Publicação na Fonte

B266a Baron Júnior, Henri.

Avaliação microbiológica de salames coloniais comercializados na cidade de Panambi-RS. / Henri Baron Júnior. – Cruz Alta, 2022.

45 f.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Juliana de Mello Silva.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Curso de Licenciatura em Pedagogia, Unidade em Cruz Alta, 2022.

1. Avaliações microbiológicas. 2. Boas Práticas. 3. Higiene.
4. Salames coloniais. I. Silva, Juliana de Mello. II. Título.

HENRI BARON JÚNIOR

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE SALAMES COLONIAIS
COMERCIALIZADOS NA CIDADE DE PANAMBI-RS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como requisito parcial para a
obtenção do título de Bacharel em Ciência
e Tecnologia de Alimentos pela
Universidade Estadual do Rio Grande do
Sul.

Orientador(a): Prof.^a Dra. Juliana de Mello
Silva

Aprovado em / /

BANCA EXAMINADORA

Orientadora Prof.^a Dra. Juliana de Mello Silva
Universidade Estadual do Rio Grande do Sul – UERGS

Prof^o Dr. Paulo Afonso Carvalho
Universidade Estadual do Rio Grande do Sul – UERGS

Prof^a Dra. Jussara Navarini
Universidade Estadual do Rio Grande do Sul – UERGS

RESUMO

O salame é um produto tradicionalmente produzido em todo o mundo, devido a cultura da criação de suínos nas pequenas propriedades para o consumo domiciliar ou para comercialização. Sua matéria-prima conta com alto valor nutricional, por isso, é propenso a contaminações e deteriorações microbiológicas. Para produzir salame com qualidade desejável, deve-se levar em consideração a qualidade das matérias-primas, assim como, os aspectos higiênicos-sanitários. A pesquisa avaliou a presença de microrganismos contaminantes de amostras de salames coloniais de diferentes fornecedores, de acordo com a legislação vigente (INº60/2019). As análises microbiológicas foram realizadas em laboratório terceirizado, quanto a presença de *Salmonella* sp., *Escherichia coli* β -glucuronidase positiva através e *Estafilococcus* coagulase positiva pelo método. Portanto, as amostras analisadas no trabalho, todas estavam de acordo com a legislação vigente quanto a análise de *Salmonella* sp. Apenas uma das amostras apresentou qualidade intermediária aceitável quanto a *Estafilococcus* coagulase positiva e para *Escherichia coli* β -glucuronidase positiva.

Palavras-chave: Avaliações microbiológicas. Boas Práticas. Higiene. Salames coloniais.

ABSTRACT

Salami is a product traditionally produced around the world, due to the culture of raising pigs on small properties for home consumption or for commercialization. Its raw material has high nutritional value; therefore, it is prone to contamination and microbiological deterioration. To produce salami with desirable quality, the quality of the raw materials must be taken into account, as well as the hygienic-sanitary aspects. The research evaluated the presence of contaminating microorganisms in samples of colonial salami from different suppliers, in accordance with current legislation (IN°60/2019). Microbiological analyzes were performed in an outsourced laboratory, regarding the presence of *Salmonella* sp., *Escherichia coli* β -glucuronidase positive, and *Staphylococcus coagulase* positive. Therefore, the samples analyzed in the work, all were in agreement with the current legislation regarding the analysis of *Salmonella* sp. Only one of the samples showed acceptable intermediate quality for coagulase positive *Staphylococcus* and for *Escherichia coli* β -glucuronidase positive.

Key-words: Microbiological assessments. Good habits. Hygiene. Colonial salamis.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
2.1 PRODUTOS CÁRNEOS EMBUTIDOS	12
2.2 SALAMES.....	13
2.2.1 Matérias primas para elaboração do salame	15
2.2.1.1 Carne.....	15
2.2.1.2 Gordura.....	15
2.2.1.3 Sal (Cloreto de Sódio).....	16
2.2.1.4 Sais de cura.....	16
2.2.1.5 Açúcares	17
2.2.1.6 Culturas iniciadoras ou culturas “starters”	17
2.3 ELABORAÇÃO DO SALAME.....	18
2.4 MICRORGANISMOS CONTAMINANTES EM EMBUTIDOS DO TIPO SALAME.....	19
2.5 PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS.....	22
3 METODOLOGIA	24
3.1 COLETA DE AMOSTRAS	24
3.2 LOCAL DE REALIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS	24
3.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	24
3.3.1 Análise de <i>Salmonella</i>	25
3.3.1.1 Pré-enriquecimento em meio não seletivo líquido	25
3.3.1.2 Enriquecimento em meios líquidos seletivos	25
3.3.1.3 Plaqueamento e identificação	25
3.3.1.4 Confirmação da identidade.....	25
3.3.2 Análise de <i>Escherichia coli</i>	27
3.3.2.1 <i>Escherichia coli</i> positiva para β-glucuronidase.....	28
3.3.2.2 Enumeração	28
3.3.2.3 Plaqueamento	28
3.3.3 Análise de <i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	28
3.3.3.1 Princípio do Método.....	29
3.3.3.2 Meio de ágar Baird-Parker.....	29
3.3.3.3 Plaqueamento	30

3.3.3.4 Inoculação e incubação	30
3.3.3.5 Enumeração e confirmação	31
3.3.3.6 Colônias presumivelmente Estafilococos coagulase positiva	31
3.3.3.7 Colônias não presumidamente Estafilococos coagulase-positivas.....	31
3.3.3.8 Procedimento de contagem de colônias	31
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5 CONCLUSÃO	36
REFERÊNCIAS.....	37

1 INTRODUÇÃO

Os primeiros relatos de embutidos na história ocorreram no Império Romano no período de 27 a.C. a 476 d.C. Esses produtos eram obtidos através da mistura de carne, sangue e gordura animal, sendo embutidos em envoltórios e posteriormente assados. A cocção era utilizada para eliminar parte da água presente no alimento, fazendo com que obtivesse um período maior de validade. Essa técnica foi difundida por toda Europa, chegando ao Brasil com os imigrantes no século XIX (WOORTMANN; WOORTMANN, 1997).

Os imigrantes depararam-se com as intempéries das regiões que colonizaram, pois, a oferta de alimentos era baixa devido a tecnologia precária da época, não existia fertilizantes nem sementes de qualidade para uma produção abundante. As famílias eram numerosas, cultivavam a terra e armazenavam os grãos e cereais para consumo das pessoas do círculo familiar, assim como, os animais. Esses animais tinham importância para a subsistência e desenvolvimento das comunidades, já que eram a principal fonte proteica da alimentação (TERHORST; SCHMITZ, 2007).

Feitosa (1999), admitiram que a massa interna da carne de mamíferos não apresentava microrganismos. Com exceção, da superfície externa e dos tratos digestivo e respiratório, os demais tecidos dos animais contêm poucos microrganismos. A contaminação mais relevante da carne é de origem externa, durante o abate, a manipulação e também, devido aos tratamentos aos quais é submetida. O abate dos animais e as operações subsequentes como sangria, evisceração, desossagem, comuns a todos os animais, podem dar origem à contaminação dos tecidos subjacentes que antes eram estéreis.

O manejo pré-abate é um dos principais fatores que afetam a qualidade da carne, mas as condições dos abatedouros, tempo de exposição à temperatura ambiente, condições de estocagem e distribuição nos locais de comercialização, também são fatores determinantes quando se diz respeito a qualidade microbiológica da carne (BECKER; KIEL, 2011). Devido à falta de tecnologias de conservação adequadas, alguns processos já conhecidos eram realizados para minimizar possíveis contaminações nos produtos. Especialmente nos embutidos, processos como defumação, dessecação ou embutimento com envoltórios, eram realizados. Os produtos eram curados com a finalidade de aumentar sua validade, possibilitando melhorar a segurança e a qualidade do alimento produzido (BORGES, 2007).

Um dos principais produtos cárneos embutidos é o salame, devido a cultura na produção de suínos nas pequenas propriedades, tanto para o consumo domiciliar ou para comercialização. Tradicionalmente, o salame tipo colonial é produzido de maneira artesanal, no próprio domicílio ou em pequenas indústrias (MAGRO; KLEIN, 2006). Dessa maneira, o governo federal assinou no dia 18 de julho de 2019, um decreto que institui o Selo Arte, previsto na Lei 13.680/18, para desburocratizar a produção e a venda de alimentos artesanais, ampliando esse mercado. É uma certificação que permite que produtos como queijos, embutidos, pescados, mel, possam ser vendidos livremente em qualquer parte do território nacional. Para os consumidores, é uma garantia de qualidade, com a segurança de que a produção artesanal respeita as boas práticas agropecuárias e sanitárias (EMATER, 2019).

O salame é definido como produto cárneo industrializado obtido de carne suína ou suína e bovina, adicionado de toucinho, sais de cura e condimentos, embutido em envoltórios naturais e/ou artificiais, curado, fermentado, maturado, defumado ou não e dessecado (BRASIL, 2000).

Para produzir um salame com a qualidade desejada é de suma importância que haja excelentes condições de higiene no processamento, onde o produto final deve apresentar as características desejadas como 60% de carne suína, conter textura, cor, sabor, odor característico, baixa atividade de água, ser adicionado sais de cura, apresentar baixo pH e exibir a presença de substâncias antimicrobianas formadas durante o processamento. A combinação desses fatores é suficiente para impedir o desenvolvimento de bactérias deteriorantes e da maioria dos patógenos, que podem causar doenças de origem alimentar (CASARIL *et al.*, 2017).

As doenças transmitidas por alimentos (DTAs) são problemas enfrentados desde a antiguidade, onde seus principais disseminadores são os alimentos de origem animal, em decorrência da falta de cuidados na higiene durante a produção. No Brasil, entre os anos de 2009 a 2018, os agentes etiológicos que ocuparam os quatro primeiros lugares em surtos notificados de DTAs foram respectivamente, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Staphylococcus* sp., e coliformes (SANTOS, 2019). Esses microrganismos são potencialmente patogênicos, e sua presença em alimentos é indicativo da falta de práticas higiênicas, podendo acarretar danos à saúde de quem os consome. Portanto é importante que as condições higiênico-sanitárias dos abatedouros estejam em acordo com as Boas Práticas de Fabricação.

Na região Sul do Brasil, o salame possui grande importância, sendo um produto de grande aceitação, que está associada ao preço, a conveniência de compra e, principalmente, pela influência das culturas alemã e italiana (CASARIL *et al.*, 2017). Sendo assim, na cidade de Panambi, Rio Grande do Sul, o salame colonial representa aspectos culturais e econômicos positivos, pois grande parte do produto comercializado é produzido por agroindústrias familiares, vendidos em feiras e supermercados da cidade, trazendo fonte de renda para as famílias que produzem, resgatando a cultura da região.

O objetivo geral do trabalho é avaliar a qualidade microbiológica em salames coloniais comercializados na cidade de Panambi, Rio Grande do Sul. Como objetivo específico, analisar a carga microbiana presente nas amostras através da contagem de *Escherichia* β -glucuronidase positiva, *Estafilococcus* coagulase positiva e presença de *Salmonella* sp.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 PRODUTOS CÁRNEOS EMBUTIDOS

A produção de embutidos cresceu em várias partes da Europa durante a Idade Média (476 d.C. a 1453), por isso, muitos desses produtos tem os nomes dos lugares de origem. Assim, as receitas e formas de preparo foram aprimorando-se, pois não se conhecia o motivo dessas transformações que hoje chamamos de fermentação. Com o avanço tecnológico do século XX, desenvolveu-se maquinários e utensílios que otimizaram a fabricação, obtendo produtos de melhor qualidade e maior vida útil (PEÑAHERRERA, 2018).

Os embutidos cárneos surgiram influenciados pelos tipos de clima em cada região. Climas frios intensificaram as variedades frescas cruas ou defumadas, enquanto climas mais quentes como na Itália, parte Sul da França e Espanha, levaram aos embutidos desidratados, como os diferentes tipos de salames. Entende-se por embutido, todo o produto elaborado com carne ou órgãos comestíveis, curado ou não, condimentado, cozido ou não, defumado e dessecado ou não. Tendo como envoltório tripa, bexiga, outra membrana animal ou películas artificiais. Os embutidos tradicionalmente são feitos de carne de porco, mas, também podem ser produzidos a partir de carne de gado, frango e peru (FORTUNA; FRANCO, 2005). Por serem matérias primas de alto valor nutricional e propícias a contaminações microbiológicas, recomenda-se o uso de culturas iniciadoras, pois favorecem a fermentação láctica.

Para produção de embutidos cárneos com qualidade aceitável são utilizadas bactérias viáveis, as quais são adicionadas ao alimento, com a finalidade de melhorar a conservação, a segurança e as características sensoriais. São denominadas culturas "*starter*" ou iniciadoras. Como cultura iniciadora, as bactérias lácticas podem acelerar o processo de maturação, visto que dominam o processo fermentativo. Em adição, as bactérias ácido lácticas podem produzir substâncias antimicrobianas, como bacteriocinas, conferindo aos produtos maturados e frescos melhor qualidade sanitária. A cultura iniciadora produz ácido láctico no início da fermentação, que diminui o pH e pode inibir microrganismos indesejáveis como *Salmonella* sp. e *Escherichia coli* enteropatogênica, além de conferir sabor ácido característico de produtos fermentados (BALDUINO *et al.*, 1999).

Ainda de acordo com Balduino *et al.* (1999), dois aspectos devem ser considerados quando se utiliza cultura iniciadora na indústria de carnes, a fermentação e a antibiose. No caso da fermentação, a cultura iniciadora adicionada age sobre o substrato, resultando em benefícios à carne. No caso da antibiose, a cultura iniciadora deve inibir o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis que causam danos ao produto ou à saúde humana.

O uso de culturas em produtos cárneos visa principalmente melhorar a qualidade final do produto, complementando ou substituindo em parte o uso de aditivos e conservantes químicos. A fermentação láctica é uma das mais importantes fermentações da indústria alimentícia, que além de atuar na conservação dos alimentos, também confere características sensoriais agradáveis (FELDMANN, 2015).

2.2 SALAMES

O salame, segundo a Instrução Normativa 22 de 31 de julho de 2000, é definido como produto cárneo industrializado obtido de carne suína ou suína e bovina, adicionado de toucinho, ingredientes, embutido em envoltórios naturais e/ou artificiais, curado, fermentado, maturado, defumado ou não e dessecado. A Instrução define ainda, as características de identidade e qualidade da Linguíça Colonial, popularmente denominada Salame Colonial. Pode ter a denominação de venda segundo sua origem e fabricação, ou seja, o tipo de processo de produção (BRASIL, 2000).

De acordo com Magnani (2001) por mais que exista uma grande variedade de salames produzidos em todo o mundo, a tecnologia empregada na fabricação desses produtos é, essencialmente, similar. Os salames fermentados são alimentos tradicionais na Europa central e meridional-central e resultam da fermentação láctica da mistura de carne, gordura, sal, agentes de cura, como nitrato e ou nitrito e condimentos. O produto, submetido a diferentes processos de fermentação e secagem, apresenta características finais dependentes das condições termohigrométricas de cada região e dos ingredientes utilizados (BALDINI *et al.*, 2000). A classificação desses produtos é realizada de acordo com alguns critérios, tais como composição, calibre, grau de moagem dos ingredientes, condimentos e temperos adicionados, defumação ou não, e duração do período de maturação (ORDONEZ *et al.*, 1999 *apud* MAGNANI, 2001).

Como não são submetidos a tratamento térmico, a segurança microbiológica desses produtos depende da combinação de fatores como pH baixo, atividade de água baixa, presença de cloreto e nitrato de sódio e outros agentes antimicrobianos adicionados durante o processamento ou produzidos durante o processo fermentativo (BACCUS, 1984 *apud* MAGNANI, 2001).

No Brasil são produzidos salame tipo Italiano, salame tipo Milano, salame tipo Hamburguês, salame tipo Friolano, salame tipo Calabrês, salame tipo Alemão e Salaminho. A diferenciação entre os tipos de salame baseia-se na matéria-prima (exclusivamente carne suína ou junção de carnes suína e bovina), na granulometria da carne e do toucinho (fina, média ou grossa), na condimentação e na aplicação ou não de defumação (BRASIL, 2000).

Dentre estes, o tipo Italiano é um dos mais consumidos, e de acordo com a legislação, este produto deve ter no máximo 35% de umidade, 32% de gordura, 4% de carboidratos, 0,90 de atividade de água e no mínimo 25% de proteína. Pela legislação, a linguiça colonial possui definição apenas para teor de gordura (máximo 30%), proteína (mínimo 18%) e carboidratos totais (máximo 1,5%). A legislação não faz referência a umidade e a atividade de água para este produto, por isso, geralmente a linguiça colonial apresenta elevado teor de umidade, fator que pode propiciar ao desenvolvimento de microrganismos (BONACINA *et al.*, 2020). Alguns aspectos devem ser considerados quanto a qualidade sanitária dos salames, a fermentação é apontada a etapa mais importante para gerar a estabilidade e segurança do embutido fermentado.

Os alimentos fermentados são preservados pela conversão dos açúcares em ácidos orgânicos, diminuindo o pH e removendo carboidratos como fonte de nutriente, fazendo com que se estenda a vida de prateleira e melhore a segurança do produto final (MORENO, 1999 *apud* DEGENHARDT, 2006).

Durante a fermentação, ocorre produção de ácido láctico e conseqüentemente o abaixamento do pH do produto. A fermentação é uma importante fase do processo de elaboração de salames devido às transformações físicas, químicas e microbiológicas que ocorrem. Permite ao produto uma liberação mais rápida e uniforme de água durante a secagem. Essas mudanças são influenciadas pelas características da carne crua e as condições de processamento, alcançando as características organolépticas do produto final (flavor, cor e textura). As principais transformações que ocorrem são a mudança na microbiota inicial, diminuição do pH,

redução de nitratos a nitritos e a óxido nítrico e a formação de nitrosomioglobina, solubilização e gelificação de proteínas miofibrilares e sarcoplasmáticas, fenômenos proteolíticos, lipolíticos e oxidativos (DEGENHARDT, 2006).

2.2.1 Matérias primas para elaboração do salame

2.2.1.1 Carne

Na seleção de matéria-prima para produção de salame prefere-se as carnes mais intensamente coradas, de animais de maior idade, sãos, bem nutridos e descansados. A coloração escura do salame constitui um atributo importante de qualidade, por esse fato se emprega o uso de carne bovina nas formulações, visto conter maior teor de mioglobina do que a carne suína (MACEDO, 2005).

Os principais fatores que determinam se a carne é ou não adequada, são a capacidade de retenção de água, o pH e a cor. Quando se usa carne suína, o valor de pH deve ser de 5,6 - 6,0. Isso ajuda o início da fermentação e assegura o decréscimo adequado do pH (RECH, 2010).

A carne escura, firme e seca (DFD) não é adequada, porém, a carne pálida, branca e exsudativa pode ser usada na formulação de embutidos fermentados em até 20%. A carne também deverá ser de boa qualidade microbiológica para reduzir a competição no início da fermentação (VARNAM, 1998 *apud* RECH, 2010).

2.2.1.2 Gordura

A gordura é fundamental na manutenção da qualidade dos embutidos fermentados, relacionado à textura, suculência e sabor por meio do alto teor de ácidos graxos. É um ingrediente importante na formulação de embutidos fermentados, para conferir sabor e aroma ao produto final. Porém, pode ocorrer a oxidação desta gordura e levar à rancidez, o que acaba por reduzir a vida de prateleira de embutidos. Para evitar a rancidez deve-se usar gordura que tenha alto ponto de fusão e que tenha um baixo conteúdo de ácidos graxos insaturados. Na elaboração de produtos cárneos, a gordura dorsal de suínos é utilizada por possuir baixo conteúdo de ácidos poli-

insaturados linoleico e linolênico, que são propensos a oxidação (NASCIMENTO *et al.*, 2008).

A gordura empregada na elaboração de embutidos fermentados é predominantemente a gordura subcutânea de suínos (toucinho). O toucinho é picado em fragmentos com granulometria caracterizada para o tipo de embutido produzido. A qualidade da gordura utilizada é fundamental para a qualidade final do produto, pois contribui significativamente para o estabelecimento da estrutura e características sensoriais do salame (NASCIMENTO *et al.*, 2008).

2.2.1.3 Sal (Cloreto de Sódio)

O sal é um dos aditivos mais antigos usado pelo homem para a conservação de carnes e peixes. Sua utilização abrange uma variedade de fatores, como prevenção de crescimento de microrganismos, redução da atividade de água, controle da ação enzimática, facilidade para extração de certas proteínas, contribuição para uma fermentação desejável, aditivo para o sabor salgado e que realce o *flavor* de produtos alimentícios, também intervém na solubilização das proteínas. Melhorando o aumento da estabilidade das emulsões cárneas, devido a melhor incorporação de gordura na massa (NASCIMENTO *et al.*, 2008).

Em embutidos do tipo salame é adicionado normalmente uma concentração de 2,5 a 3,0%. Este, em combinação com o nitrito de sódio em concentração de até 150 ppm e pH reduzido, formam um poderoso sistema inibidor (RECH, 2010).

2.2.1.4 Sais de cura

A adição de nitratos e nitritos em embutidos cárneos tem como finalidade a estabilização da cor dos tecidos magros, contribuição com o aroma característico da carne, diminuição da velocidade de desenvolvimento de rancidez 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. Entretanto, a reação do nitrito com aminas secundárias pode dar origem a nitrosaminas, que são substâncias

carcinogênicas, porém, as bactérias láticas atuam na redução dessas substâncias até nitrogênio elementar, diminuindo a formação de nitrosaminas (VANZIN, 2002).

Do ponto de vista comercial, o efeito de fixação de uma coloração rósea aos produtos cárneos curados, faz com que o nitrito assuma grande influência na aceitação desses alimentos pelo consumidor, bem como, do ponto de vista de saúde pública. Atua na prevenção da germinação dos esporos de *Clostridium botulinum* e inibição do crescimento de microrganismos como *Salmonella* e *Staphylococcus*. No entanto, apesar das referidas vantagens tecnológicas e efeitos desejáveis obtidos no processamento e conservação de alimentos, fatos históricos e trabalhos científicos têm evidenciado que a ingestão de nitrito em altas quantidades podem ser potencialmente perigosa à saúde humana (OLIVEIRA *et al.*, 2017).

O Ministério da Saúde, em sua Portaria nº 1004/1998, estabeleceu um limite máximo do teor desses conservantes em alimentos prontos para consumo, de 150 mg/Kg de nitrito de sódio ou potássio e de 300 mg/Kg de nitrato de sódio ou potássio. A referida portaria permite ainda a mescla de nitrito e nitrato, desde que a soma das suas concentrações não seja superior a 150 mg/Kg (BRASIL, 1998).

2.2.1.5 Açúcares

O açúcar também é um aditivo do processo de cura, proporcionando aroma à carne curada e permitindo o desenvolvimento de algumas bactérias desejáveis, produtoras do aroma. O açúcar evita o salgamento excessivo, moderando o sabor, ao mesmo tempo em que ajuda na diminuição da umidade. Há indícios que favorece a formação da cor durante a defumação, sendo a adição de açúcar à formulação dos embutidos fermentados uma prática rotineira. A presença de açúcar cria condições redutoras durante o processo de cura, o que previne o desenvolvimento de aromas de oxidação. O ambiente redutor formado influi na cor da carne curada porque estabiliza o Fe^{+2} (DEGENHARDT, 2006).

2.2.1.6 Culturas iniciadoras ou culturas “starters”

A fim de padronizar o produto final, passou-se a utilização de culturas puras de microrganismos, essas culturas são essenciais no controle de microrganismos deteriorantes e patogênicos para a segurança de produtos cárneos fermentados, por

serem competitivos frente a esses microrganismos indesejáveis presentes na matéria-prima. As culturas iniciadoras comerciais consistem em uma mistura de mais de um microrganismo, que somam suas ações. São divididos em dois grupos, o primeiro é formado por *Lactobacillos* e *Pediococcus*, responsáveis pela fermentação dos carboidratos para produção de aroma e sabor dos embutidos curados e pelo abaixamento do pH, realizando acidificação. O segundo grupo é formado pela família *Micrococcaceae* nos gêneros *Staphylococcus*, *Micrococcus*, por leveduras (*Debaryomyces*) e bolores (*Penicillium*). Possuem enzimas nitrato redutase, que reduzem o nitrato a nitrito, conferindo a coloração dos produtos, impedindo a formação de compostos cancerígenos e atuando no sabor e aroma (BARBOSA, 2009).

2.3 ELABORAÇÃO DO SALAME

O primeiro passo é a escolha da matéria-prima. Para a obtenção de salames com qualidade significativa, o ideal é que a carne seja de coloração avermelhada de animais mais velhos. É imprescindível que a matéria-prima seja maturada, com baixo pH (5,4 e 5,8) e mantida durante três dias à 2°C (MARTINS, 2006).

Após, ocorre a trituração ou moagem da matéria-prima, que é deixada em repouso durante 24 horas a 4°C. A moagem ou trituração pode ser feita em um *cutter* ou em um picador de carne com lâminas bem afiadas, para evitar qualquer aquecimento desnecessário. Durante o armazenamento em refrigeração e aerobiose, a microbiota compõe-se principalmente de bacilos psicotróficos Gram negativos, oxidase positiva. Bactérias psicrófilas, leveduras e mofos também podem ser encontrados, enquanto as bactérias Gram positivas são escassas (WERLANG, 2012).

Em seguida é realizada a adição dos ingredientes para que ocorra a cura, podendo ser realizada no próprio *cutter* ou em misturadora (MARTINS, 2006). Segue-se para o embutimento, que possui a finalidade de dar forma ao produto cárneo, utilizando envoltos de origem natural ou artificial, de acordo com o salame que será elaborado (PARDI *et al.*, 2001 *apud* WERLANG, 2012).

Depois de embutido, o salame passa por um processo de secagem em temperaturas entre 22°C e 27°C, com umidade relativa aproximadamente 90% durante 48 horas, possibilitando o desenvolvimento de alguns microrganismos que estavam presentes inicialmente na massa. Agentes de cura, especiarias, a acidez e aerobiose, favorecem a inversão microbiológica, onde bactérias Gram negativas

indesejadas desaparecem, favorecendo a flora Gram positiva desejada (WERLANG, 2012).

A última etapa do processo é a maturação, sendo o término da secagem, na qual tem a formação da cor, desenvolvimento de liga e aroma da massa. O embutido é submetido a condições de temperatura de 12 a 14°C e umidade relativa de 75 a 85%. Nessas condições, não somente o pH e atividade de água continuam diminuindo, como ocorre a hidrólise enzimática das proteínas e dos lipídeos. O salame estará pronto para o consumo quando perder 25 a 30% de seu peso (MARTINS, 2006).

A defumação é uma etapa opcional na produção de salames. Geralmente é usada a fumaça da combustão lenta da serragem. Esse método tende a inibir o crescimento bacteriano, retardar a oxidação lipídica e conferir odor e sabor a carne curada. Pode-se optar pelo tempo de exposição do produto a fumaça, assim como, a fumaça líquida, variando o sabor conferido ao salame (LAWRIE, 2005 *apud* WERLANG, 2012).

O produto final deve ser embalado em material adequado, livre de microrganismos, conferindo condições de armazenamento, visando proteção contra contaminações. Podendo ser exposto nos pontos de venda em temperatura ambiente quando embalado apropriadamente (MARTINS, 2006).

2.4 MICRORGANISMOS CONTAMINANTES EM EMBUTIDOS DO TIPO SALAME

Devido sua composição química, a carne é um excelente meio de cultura. A quantidade e os tipos de microrganismos que se desenvolverão na carne dependerão das condições de produção. Os tipos de deterioração mais comuns são classificados de acordo com a atmosfera que envolve os produtos e a temperatura de conservação. Devido às características físico-químicas dos embutidos fermentados e do processo de fabricação, este grupo de alimentos cárneos é considerado de severidade alta, mas com risco moderado, embora não existam estudos epidemiológicos suficientes (DEGENHARDT, 2006).

A denominação de "coliformes a 45°C" é equivalente à denominação de "coliformes de origem fecal" e de "coliformes termotolerantes". Caso seja determinada a presença de *Escherichia coli*, deve constar no laudo analítico (BRASIL, 2001). Entretanto, apenas a presença de *Escherichia coli* em alimentos indica contaminação

fecal, por ser encontrada em grande quantidade no trato gastrointestinal do homem e animais de sangue quente (SILVA *et al.*, 2006).

Os coliformes fazem parte da família *Enterobacteriaceae*. São capazes de fermentar a lactose com conseqüente produção de gás, quando incubados à temperatura de 35 a 37°C. As bactérias que pertencem a este grupo são dos gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*, podendo causar surtos de diarreias, cólicas, náuseas e vômito. A presença desse grupo de bactérias está ligada às condições higiênicas do local e dos manipuladores (SANTOS, 2019). Ainda de acordo com Santos (2009), a *Escherichia coli* pertence ao grupo dos coliformes, estando em primeiro lugar no que diz respeito aos agentes mais identificados nos surtos entre 2009 e 2018, contabilizando 23,4% dos casos de 3,431 surtos. Pode causar desintérias, levando a febre, vômito e mal estar, perdurando por até nove dias.

A *Escherichia coli* é a espécie anaeróbica facultativa mais abundante de bactérias da flora intestinal humana. Geralmente parece ser uma comensal inofensiva, porém, em algumas circunstâncias, as cepas de *E. coli* podem ser patogênicas para humanos, sendo agrupadas em vários patótipos. Entre estes, a *Escherichia coli* patogênica extraintestinal (ExPEC) é responsável por infecções do trato urinário, intra-abdominais e de tecidos moles, meningite, pneumonia e osteomielite frequentemente associada à bacteremia. A bacteremia representa a décima maior causa de morte nos países desenvolvidos, sendo a *E. coli* responsável por 30% do total do número da doença (JAUREGUY *et al.*, 2008).

A *Salmonella* entérica, segundo Forsythe (2013) é uma espécie bacteriana em forma de bacilo, faz parte da família das *Enterobacteriaceae*, que são relacionadas com patologias de origem alimentar. Seu habitat natural é o trato intestinal humano e animal, sendo transmissão através da liberação de fezes contaminadas no ambiente. É uma bactéria anaeróbica facultativa fermentadora de glicose, que normalmente não consegue fermentar lactose e sacarose. Esta bactéria pode estar presente também na água, solo, carnes bovinas, suínas, verduras e hortaliças contaminadas com fezes (SHINOHARA *et al.*, 2008). A salmonelose, doença causada por bactérias do gênero *Salmonella*, é uma das zoonoses que trazem transtorno a saúde pública mundial devido à capacidade de causar toxinfecção alimentar podendo levar o indivíduo ao óbito (FILHO *et al.*, 2014).

O *Staphylococcus aureus* é o principal representante dos *Staphylococcus* coagulase positiva. Ele produz três toxinas (toxinas esfoliantes, leucocidina e

enterotoxina), as quais são importantes por serem muito resistentes em temperaturas elevadas e reconhecidas como responsáveis pelas intoxicações alimentares. A intoxicação alimentar causada pelo *S. aureus* se dá logo após a ingestão do alimento contaminado, com a toxina pré-formada, cuja dose infectante é de 100.000 células/g de alimento. Os sintomas são caracterizados por vômito, diarreia, dores abdominais e eventualmente, dores de cabeça e prostração (NASCIMENTO *et al.*, 2001).

Os estafilococos são microrganismos mesófilos com temperatura de crescimento entre 7 e 47,8°C, que podem produzir enterotoxinas termorresistentes em temperaturas entre 10 e 46° C, com temperatura ótima entre 40 e 45° C. O pH ideal para seu desenvolvimento varia entre 7 a 7,5, mas é possível a multiplicação em alimentos com pH variando entre 4,2 e 9,3. Este grupo de microrganismos ainda tem a capacidade de sobreviver e se multiplicar em uma concentração de cloreto de sódio de até 15% e a produção de enterotoxina acontece em concentrações de sal de até 10%, fazendo com que os alimentos curados também sejam veículos potenciais de intoxicação (SANTANA *et al.*, 2020).

Staphylococcus aureus é a espécie mais comum ao homem. Coloniza comensalmente a saliva, a pele, o tubo digestivo e a mucosa nasal. Cerca de 20% da população estão colonizadas com *S. aureus*, 60% são portadores intermitentes e 20% não possuem este microrganismo. Os não portadores podem adquirir a infecção a partir dos portadores por transmissão aerógena ou por ingestão de alimentos contaminados quando manipulados por portadores. Outra característica importante do *S. aureus* é a capacidade de determinadas estirpes produzirem enterotoxina termoestáveis causadoras de gastroenterites. Essa bactéria é causadora de infecções em mamíferos, como humanos e bovinos (PEACOCK *et al.*, 2001).

De acordo com exposto acima, chama-se de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA), as doenças causadas pelos microrganismos. Essas doenças podem ser causadas pela ingestão de um alimento contaminado por um agente infeccioso específico ou pela toxina por ele produzida, por meio da transmissão desse agente, ou de seu produto tóxico. As enfermidades de origem alimentar são caracterizadas, geralmente, por um conjunto de sintomas gástricos, envolvendo vômito, diarreia, dores abdominais e febre, que podem ocorrer individualmente ou em combinação (ALVES *et al.*, 2006).

2.5 PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS

Muitos alimentos que não são submetidos a análises microbiológicas tornam-se um risco à saúde, pois, podem causar uma ampla variedade de doenças. As doenças diarreicas, por exemplo, são a principal causa de morte em crianças e a segunda em adultos, e em muitos casos são relacionados com a ingestão de alimentos contaminados. Por isso é necessário estabelecer critérios microbiológicos para garantir a segurança dos alimentos e proteger a saúde do consumidor. O desenvolvimento de critérios para o controle microbiológico de alimentos implica, entre outras coisas, a fixação do método analítico a ser utilizado para garantir conformidade com esses critérios (VEIGA *et al.*, 2017).

Visando proteção da saúde dos consumidores, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), por meio do Regulamento Técnico sobre padrões Microbiológicos para Alimentos, estabelece padrões microbiológicos sanitários limites para a presença de alguns grupos ou espécies de microrganismos, nas diferentes categorias de alimentos destinados ao consumo humano (BRASIL, 2001).

Para estabelecer padrões para o controle sanitário de alimentos destinados ao consumo humano, a ANVISA, em 2001, criou a Resolução RDC nº 12. Nesta, estão dispostos os valores dos padrões microbiológicos para a presença de microrganismos indicadores nos alimentos de diferentes grupos. Os padrões foram fixados com regulamentos firmados no Mercosul (SANTOS, 2019). No entanto, em dezembro de 2019, essa resolução foi substituída pela Resolução 331 de 2019 e pela Instrução Normativa 60 de 2019. Ambas foram editadas para definir novos padrões de microbiologia para a cadeia de alimentos, servindo tanto para avaliar a segurança na comercialização de alimentos oferecidos ao consumidor, como, orientam as empresas quanto às práticas de higiene a serem adotadas. O Quadro 1 apresenta os padrões indicados para produtos cárneos maturados, do grupo que inclui salames.

Quadro 1 - Padrões microbiológicos sanitários para alimentos para produtos cárneos maturados, dessecados

Microrganismos	n	c	m	M
<i>Salmonella</i> /25g	5	0	Ausente	-
<i>Escherichia coli</i> /g	5	2	<10	10 ²
Estafilococcus coagulase positiva/g	5	1	10 ²	10 ³

Legenda: n: número de unidades a serem colhidas aleatoriamente de um mesmo lote e serem analisadas individualmente. C: é o número máximo aceitável de unidades de amostras com contagens entre os limites de m e M. m: é o limite que, em um plano de três classes, separa o lote aceitável do produto ou lote com qualidade intermediária aceitável; M: é o limite que em um plano de três classes, separa o lote com qualidade intermediária aceitável do lote inaceitável.

Fonte: BRASIL, (2019).

Onde n é o número de unidades a serem colhidas aleatoriamente de um mesmo lote e analisadas individualmente. Os quais o padrão estabelecido é ausência em 25g, como para *Salmonella* sp. e *Listeria monocytogenes* e outros patógenos. C é o número máximo aceitável de unidades de amostras com contagens entre os limites de m e M (plano de três classes). Nos casos em que o padrão microbiológico seja expresso por "ausência", c é igual a zero, aplica-se o plano de duas classes. m é o limite que, em um plano de três classes, separa o lote aceitável do produto ou lote com qualidade intermediária aceitável e M é o limite que, em plano de duas classes, separa o produto aceitável do inaceitável. Em um plano de três classes, M separa o lote com qualidade intermediária aceitável do lote inaceitável. Valores acima de M são inaceitáveis (BRASIL, 2019).

3 METODOLOGIA

3.1 COLETA DE AMOSTRAS

Foram coletadas amostras de salame de produtores da cidade de Panambi-RS, que são comercializados na feira do produtor, oriundos de produção artesanal, registrados pelo Serviço de Inspeção Municipal - SIM do município.

Antes de iniciar a coleta, realizou-se a lavagem das mãos e, após, aplicado álcool 70%. Foi usado luvas com vista à proteção das amostras e também do coletor. Procedeu-se a limpeza prévia com álcool nas superfícies que poderiam entrar em contato com os itens de ensaio, evitando que o recipiente onde foram colocadas as amostras entrassem em contato com qualquer fonte de contaminação. Ao realizar as coletas evitou-se tossir ou falar durante o procedimento. Procedeu-se à coleta das amostras em suas embalagens originais não violadas, no caso do salame, a própria tripa, observando a quantidade mínima por unidade amostral que é de 200 gramas, recomendado pelo Centro de Pesquisa em Alimentação (CEPA).

3.2 LOCAL DE REALIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS

As amostras foram encaminhadas ao Centro de Pesquisa em Alimentação (CEPA) na Universidade de Passo Fundo/RS, onde foram realizadas as análises. A fim de manter a privacidade dos produtores avaliados, as amostras foram codificadas e representadas pelas letras do alfabeto em maiúsculo, sendo elas "A, B, C, D e E". Para o transporte, as amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas, onde permaneceram sob refrigeração até o momento das análises.

3.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Foram determinadas para o estudo, as análises previstas na IN 60 de 2019, que são *Salmonella*, *Escherichia coli* e Estafilococcus coagulase positiva.

3.3.1 Análise de *Salmonella*

Segundo o CEPA, o método de análise para *Salmonella* foi realizado de acordo com a ABNT NBR ISO 6579-2002, que descreve o método horizontal para detecção de *Salmonella*, sendo que este procedimento requer quatro fases sucessivas.

3.3.1.1 Pré-enriquecimento em meio não seletivo líquido

A água peptonada tamponada foi inoculada na embalagem estéril com uma esponja em temperatura ambiente, em seguida, as amostras foram incubadas a 37 °C por 18 horas.

3.3.1.2 Enriquecimento em meios líquidos seletivos

Esta etapa foi realizada através da utilização de dois meios de cultura distintos. No primeiro meio para o enriquecimento foi utilizado o caldo Rappaport Vassiliads com soja (caldo RVS), o qual foi inoculado com a cultura obtida no item em estufa sob temperatura de 41,5 °C por 24 horas. No segundo meio, utilizou-se o caldo Muller-Kauffman tetracionato novabiocina (caldo MKTTn), que foi inoculado com a cultura em estufa sob 37 °C por 24 horas.

3.3.1.3 Plaqueamento e identificação

A partir das culturas obtidas nos enriquecimentos em meios líquidos seletivos, dois meios sólidos seletivos foram inoculados. Nesta etapa foram utilizados os meios ágar xilose lisina desoxicolato e ágar verde brilhante. Após inoculação, o ágar xilose lisina desoxicolato (XLD) foi incubado a 37 °C por 24 horas e o ágar verde brilhante 28 (AVB) foi incubado a 35 °C por 24 horas.

3.3.1.4 Confirmação da identidade

As colônias presuntivas de *Salmonella* sp. foram ativadas e plaqueadas, e para confirmação de identidade, ensaios bioquímicos e sorológicos foram realizados.

Para leitura das placas, quando o ágar XLD apresenta colônias, com ou sem centro negro, com coloração vermelha com borda amarelada, o teste é presuntivo para *Salmonella* sp. e o ágar AVB, quando apresenta colônias rosa pink ou rosa opaca, é presuntivo de *Salmonella* sp.

O ciclo de análise da *Salmonella* sp. iniciou-se no dia 1, quando foram realizadas as coletas das amostras, pré-enriquecidas em meio não seletivo com água tamponada, sendo homogeneizadas e acondicionadas em estufa sob temperatura de 35 °C por 18 horas.

No dia 2 do ciclo, foi realizado o enriquecimento seletivo, através de meio RVS e do MTTn, permanecendo de 21 a 27 horas, em estufa a 35 °C. No dia 3 do ciclo, foi realizado o plaqueamento e a identificação em meio ágar XLD e ágar AVB, pelo período de 21 a 27 horas, e após este período, as colônias características foram identificadas.

No dia 4 foi realizada a confirmação em ágar nutriente, utilizando as colônias características identificadas em ágar XLD e ágar AVB, permanecendo em estufa a 35 °C de 21 a 27 horas. As colônias típicas de *Salmonella* sp. cultivadas em ágar XLD apresentam um centro negro e uma zona levemente transparente de cor avermelhada devido a mudança de cor do indicador.

No dia 5 foi realizada a confirmação bioquímica, onde as colônias foram inoculadas nos ágares ureia (Christensen), ágar triplo açúcar/ferro (TSI), meio de Lisina de descarboxilação (LIA), reagentes para reação de Voges-Proskauer (VP), reagente para a detecção de B-galactosidase (B'g), meio de reação de indol (TT).

O ágar ureia foi estriado de forma inclinada, posteriormente, incubado a 37 °C por 24 horas. Caso a reação der positiva, ocorrerá a quebra de ureia liberando amônia, modificando a cor do fenol de vermelho para rosa pink e, posteriormente, para cor cereja-escuro.

Para o ágar TSI, mergulhou-se a alça de semeadura no fundo do tubo, estriou-se a superfície inclinada do ágar, e o tubo foi incubado a 37 °C por 24 horas. Culturas típicas de *Salmonella* sp. mostram-se alcalinas (vermelho) na superfície inclinada e ácidas (amarelo) no fundo do tubo, com formação de gás (bolhas) e com formação de sulfeto de hidrogênio (escurecimento do gás).

O meio de descarboxilação de L-Lisina (LIA) foi inoculado logo abaixo da superfície do meio líquido, sendo incubado a 37 °C por 24 horas. Caso for observada turbidez e cor púrpura após incubação, a reação foi positiva.

O meio de reação de Voges-Proskauer (VP) foi inoculado com a colônia suspeita por meio de alça, sendo incubado a 37 °C por 24 horas. Após a incubação, adicionou-se duas gotas de solução de creatina, três gotas de solução etanólica de 1-naftol e duas gotas de solução de hidróxido de potássio, homogeneizando após cada adição. A formação de cor rosa para vermelho brilhante em 15 minutos é indicativo reação positiva.

Para detecção de β -galactosidase (B'g), a alça foi suspensa com a colônia em um tubo contendo 0,25 mL de solução salina, sendo adicionada uma gota de tolueno, agitando-se o tubo. Posteriormente, o tubo foi mantido em banho-maria a 37 °C por 5 minutos, sendo adicionado 0,25 mL do reagente e homogeneizado. Se a coloração ficar amarelada após 24 horas de incubação a 37 °C é indicativo de reação positiva para *Salmonella*.

No meio de reação de indol utilizou-se um tubo contendo 5 ml do meio triptona/triptofano, onde inoculou-se a colônia suspeita. Foi incubado a 37 °C por 24 horas, e após o período de incubação adicionou-se 1 ml de reativo de Kovacs. Com a formação de um anel vermelho, a indicação é de que a reação é positiva e de um anel amarelo-castanho, indica uma reação negativa.

No dia 6, quando observado crescimento nos meios bioquímicos, realizou-se a confirmação sorológica utilizando os antígenos O e VI, empregando-se as colônias características isoladas no ágar nutriente, que foram incubadas de 21 a 27 horas em estufa a 35 °C.

A sorologia com antígeno H foi realizada no dia 7, a qual confirma a presença ou ausência de *Salmonella* sp. A aglutinação em lâmina com soro, a partir de colônias puras, confirma a presença de *Salmonella* sp. Cabe salientar que todas as etapas do processo foram realizadas em câmara de fluxo laminar, com assepsia das mãos, antes e durante cada etapa do procedimento. As inoculações foram realizadas com auxílio de uma alça, flambada entre as operações.

3.3.2 Análise de *Escherichia coli*

De acordo com o CEPA, o método de análise realizado para *E. coli* seguiu a ISO 16649.2:2001. A parte 1 foi realizada pelo método horizontal para a contagem de *Escherichia coli* positiva para β -glucuronidase por se tratar de produtos destinados ao consumo humano ou à alimentação de animais. A parte 2 foi realizada pela técnica de

contagem de colônias a 44°C em meio sólido contendo ingrediente cromogênio para detecção da enzima β -glucuronidase.

3.3.2.1 *Escherichia coli* positiva para β -glucuronidase

Essas bactérias, a 44 °C, formam uma colônia azul típica em meio triptona-bile-glucuronídeo (TBX).

3.3.2.2 Enumeração

A determinação do número de unidades formadoras de colônia (UFC) de *Escherichia coli* positiva para β -glucuronidase foi realizada por mililitro ou por grama de amostra.

3.3.2.3 Plaqueamento

As placas duplicadas de meio triptona-bile-glicurônico (TBX) foram inoculadas com a quantidade especificada da amostra de teste ou da suspensão inicial. Nas mesmas condições foram utilizadas diluições decimais da amostra teste ou da suspensão inicial em que foram inoculadas duas placas por diluição.

As placas foram incubadas por 18 h a 24 h a 44 °C \pm 1 °C e então examinadas para detectar a presença de colônias que, por suas características, são consideradas *Escherichia coli* β -glucuronidase-positivas. Posteriormente, foi determinado o número de unidades formadoras de colônias (UFC) de *Escherichia coli* positiva para β -glucuronidase por grama ou por mililitro de amostra é calculado.

3.3.3 Análise de *Staphylococcus coagulase positiva*

O CEPA realizou as análises de *Staphylococcus coagulase positiva* através da ABNT NBR ISO 6888-2: 2016. As mesmas foram realizadas pelo método horizontal para a detecção e enumeração de Estafilococos coagulase positivas, entre as quais se encontram cepas enterotoxinogênicas. Estão relacionadas a essas cepas,

principalmente *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius* e certas cepas de *Staphylococcus hyicus*.

A confirmação de colônias típicas e atípicas foi baseada em uma reação de coagulase positiva, onde identificam-se algumas cepas de *Staphylococcus aureus* com reações de coagulase fracamente positivas. As cepas podem ser confundidas com outras bactérias, podendo ser distinguidas, pelo uso de testes adicionais, como sensibilidade lisostafina, produção de hemolisina, nuclease termoestável e ácido do manitol.

3.3.3.1 Princípio do Método

O meio inclui agentes seletivos e um substrato cromogênico, resultando em colônias azul-claro/azul de *S. aureus* após incubação. As colônias presumidas foram confirmadas pelo teste de coagulase. Em comparação, o método de referência de incubação de placas de ágar Baird-Parker (BP) requer 24+2 h a 35 ou 37+1°C e marcação de colônias típicas, seguido por mais 24 horas a 35+1°C ou 37+ 1°C e marcação de colônias típicas novamente e, finalizando pelo teste confirmatório de coagulase.

3.3.3.2 Meio de ágar Baird-Parker

O ágar Baird Parker foi suplementado com Gema de Ovo e telurito para isolamento seletivo e enumeração de *Estafilococos* coagulase positivos. O Baird Parker Ágar contém peptona, extrato de carne e extrato de levedura como fontes de compostos nitrogenados, carbono, enxofre, vitaminas e oligoelementos.

O piruvato de sódio estimula o crescimento de *S. aureus* sem prejudicar a seletividade. Cloreto de lítio e o telurito de potássio tornam o meio seletivo.

A redução do telurito de potássio causa o enegrecimento das colônias e a adição da gema de ovo torna o meio capaz de detectar a produção de lipase por algumas espécies de *Estafilococos* coagulase positiva, através do desenvolvimento de zona clara ao redor da colônia.

O método horizontal para a contagem de *estafilococos* coagulase-positivos foi realizado contando as colônias obtidas em meio sólido (meio de Baird-Parker) após incubação aeróbica de 34°C a 38°C e confirmação da coagulase.

3.3.3.3 *Plaqueamento*

Alíquotas de 25 gramas de cada salame foram homogeneizadas em 225 ml de água peptonada 0,1%. Em seguida, foram realizadas diluições seriadas (10^{-2} e 10^{-3}) e as metodologias de quantificação frente ao microrganismo em estudo.

Inoculação da superfície de um meio de cultura seletiva sólida, com uma quantidade especificada do teste amostra se o produto for líquido, ou com uma quantidade determinada da suspensão inicial no caso de outros produtos.

3.3.3.4 *Inoculação e incubação*

Foi transferido, por meio de uma pipeta estéril, 0,1 ml da suspensão inicial (diluição 10^{-1}) da amostra, para uma placa de ágar Baird-Parker (BPA). Para técnicas de enumeração em microbiologia da cadeia alimentar, o número de placas de Petri a serem usadas varia de acordo com as diluições testadas.

Espalhou-se cuidadosamente o inóculo o mais rápido possível sobre a superfície da placa de ágar, tentando não tocar nas laterais da placa de Petri, usando o espalhador. Deixando as placas secarem com as tampas por cerca de 15 min à temperatura do laboratório.

Inverteu-se as placas preparadas e colocou-as por 24 h \pm 2 h na incubadora ajustada a 34°C a 38°C. Em seguida, foram reincubadas por um total de 48 h + 4 h.

Colônias com aparência típica após 24 h + 2 h de incubação podem perder sua aparência típica após 48 h + 4 h de incubação, devido ao crescimento excessivo com alargamento da zona clara durante a segunda fase de incubação. A contagem apenas em 48h \pm 4h pode levar a contagens muito baixas ou nenhuma.

3.3.3.5 Enumeração e confirmação

O cálculo do número de estafilococos coagulase-positivos por grama, a partir do número de colônias típicas ou atípicas, ou ambas, foram obtidas em placas em níveis de diluição escolhidos para fornecer um resultado significativo, e confirmado por um resultado positivo do teste de coagulase.

3.3.3.6 Colônias presumivelmente *Estafilococos* coagulase positiva

As colônias típicas são pretas ou cinza, brilhantes e convexas de 1 mm a 1,5 mm de diâmetro após incubação por 24 h 12 h, e 1,5 mm a 2,5 mm de diâmetro após incubação por 48 h 4 h e são cercadas por uma zona clara, que pode ser parcialmente opaca. Após incubação por pelo menos 24 horas, um anel opalescente em contato com as colônias pode aparecer nesta zona clara.

As colônias atípicas têm o mesmo tamanho que as colônias típicas e podem apresentar uma das seguintes morfologias: colônias pretas brilhantes com ou sem borda branca estreita, a zona clara está ausente ou pouco visível e o anel opalescente está ausente ou pouco visível.

3.3.3.7 Colônias não presumidamente *Estafilococos* coagulase-positivas

Bactérias pertencentes a outros gêneros que não são *Estafilococos* podem dar colônias com aparência semelhante à dos *Estafilococos*. O exame microscópico da coloração de Gram, antes da confirmação, permite a distinção de outros gêneros de *Estafilococos*.

3.3.3.8 Procedimento de contagem de colônias

Após incubação por 24 h + 2 h, foi marcado no fundo das placas as posições de quaisquer colônias típicas presentes. Reincubando todas as placas de 34°C a 38°C por mais 24 h ± 2 h e marcando quaisquer novas colônias típicas. Marcando também quaisquer colônias atípicas presentes.

Para a enumeração, reteve-se apenas placas contendo um máximo de 300 colônias no total (flora típica, atípica, de fundo) e incluindo um máximo de 150 colônias típicas ou atípicas, ou ambas, em duas diluições sucessivas. Uma das placas deve conter pelo menos 10 colônias (de colônias típicas ou atípicas, ou ambas). Selecionando-se para confirmação um determinado número A (em geral cinco colônias típicas se houver apenas colônias típicas, ou cinco colônias atípicas se houver apenas colônias atípicas, ou cinco colônias típicas e cinco atípicas se ambos os tipos estiverem presentes, de cada placa).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram realizadas análises quanto a *Salmonella* sp., *Escherichia coli* β -glucuronidase positiva e *Estafilococcus* coagulase positiva em cinco amostras de Salame Tipo Colonial produzidos por agroindústrias do município de Panambi, RS. Estes estabelecimentos são fiscalizados pelo Sistema de Inspeção Municipal e os produtos comercializados na feira do produtor da cidade. Os resultados estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1- Avaliação microbiológica de amostras de salames coloniais comercializados na cidade de Panambi-RS

	A A	A B	A C	A D	A E	VP*	
						m	M
<i>Salmonella</i> sp. 25g	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	Aus	-
<i>Escherichia coli</i> β-glucuronidase positiva UFC/g	<10	<40	<10	<10	<10	<10	10 ²
<i>Estafilococcus</i> coagulase positiva UFC/g	<100	<400	<100	<100	<100	10 ²	10 ³

Legenda: AA: amostra A; AB: amostra B; AC: amostra C; AD: amostra D; AE: amostra E; VP: valores permitidos; m: é o limite que, em um plano de três classes, separa o lote aceitável do produto ou lote com qualidade intermediária aceitável; M: é o limite que em um plano de três classes, separa o lote com qualidade intermediária aceitável do lote inaceitável.

Fonte: AUTOR (2022).

Pode-se evidenciar que nas análises para *Salmonella* sp. observou-se a ausência nas amostras estudadas, representando que quanto a esta análise, a qualidade das amostras é considerada aceitável. Assim como no trabalho apresentado por Thomé *et al.*, (2014) que das cinco marcas de salame avaliadas provenientes de estabelecimentos comerciais de Francisco Beltrão-PR, 100% apresentaram-se em conformidade com a legislação nos parâmetros físico-químicos de proteína, carboidrato e lipídio e nos parâmetros microbiológicos para *Salmonella* sp. Já em estudo realizado por Zocche *et al.* (2011), *Salmonella* sp. foi encontrada em 5,9% das amostras de salames produzidas e comercializadas na região Oeste do

Paraná. No trabalho de Rossi e Bampi, (2015) foi evidenciada que em 10,1% das amostras apresentaram presença de *Salmonella* sp.

Pode-se dizer que falhas no processo de higienização dos equipamentos e utensílios implicam na contaminação do produto, já que logo após a moagem o patógeno pode ser encontrado. Práticas inadequadas de higienização de equipamentos e superfícies podem permitir a sobrevivência de microrganismos, servindo como fonte constante de contaminação para os produtos no ambiente industrial (REIJ *et al.*, 2004 *apud* PEREIRA *et al.*, 2019). Alguns autores sustentam a ideia de que a prevalência de patógenos em salames é derivada da matéria-prima cárnea contaminada e do próprio ambiente de manipulação. Estudos realizados demonstraram a persistência de um sorotipo de *Salmonella* sp. durante vários lotes de embutidos, sugerindo um processo de higienização industrial deficiente (GORMLEY *et al.*, 2009).

Observou-se na pesquisa que 80% das amostras dos salames avaliados estão dentro dos parâmetros da legislação vigente e 20% estão em desacordo quanto aos parâmetros legais referentes a *Escherichia coli* β -glucuronidase positiva e Estafilococcus coagulase positiva. Sendo que a amostra AB foi considerada com qualidade intermediária aceitável quanto a contagem de Estafilococcus coagulase positiva e *Escherichia coli* β -glucuronidase positiva.

Este trabalho corrobora com estudo realizado por Bringhenti; Giolo (2008) declarando que as amostras analisadas apresentaram ausência de *Samonella*. Para coliformes totais, as amostras apresentaram contagens de microrganismos. Para análise de coliformes fecais (termotolerantes) a 45°C, duas amostras demonstraram contagem, sendo que estas, se encontravam dentro dos valores limites permitidos pela legislação.

Tussi *et al.*, (2008) demonstram que entre as 20 amostras analisadas, todas apresentavam contagem bacteriana para coliformes totais e *E. coli*. Destas, 10 amostras (50%) estavam acima do limite estabelecido para produtos cárneos maturados. Todas as amostras apresentaram contagem bacteriana para *S. aureus* coagulase positiva, estando todas acima do limite estabelecido.

Andreoli (2009) relata que de 75 amostras analisadas, 58 (77,3%) estavam fora do padrão estabelecido na legislação. Entretanto, em salames do tipo colonial, como não há adição de culturas iniciadoras, a fermentação ocorre através da microbiota de

crescimento espontâneo da matéria-prima, ocasionando um menor controle de microrganismos patogênicos e/ou deteriorantes.

Conforme estudo realizado em Cascavel-PR por Bringhenti e Giolo (2008), em nenhuma das amostras de salame foi verificada a presença de *Samonella* sp., entretanto, houve a presença de coliformes a 36°C em todas as origens, também foram encontradas coliformes (termotolerantes) a 45°C em duas das três origens.

Outros estudos como de Gottardo et al., (2011) verificaram a presença de *Staphylococcus aureus* em 16,7% das amostras de salames. Já Samulak et al., (2011) apresenta em suas análises realizadas em mãos de manipuladores de embutidos de carne, encontraram contagem para coliformes termotolerantes e totais. Deixando em evidencia a falta de cuidados com a higiene durante a manipulação de alimentos.

Os resultados das análises para Coliformes termotolerantes e totais mostram que as condições sanitárias são insatisfatórias para o processamento dos alimentos, pois esses microrganismos podem estar presentes nos utensílios utilizados e superfícies da planta de produção, retratando as condições higiênicas dos manipuladores e a qualidade da matéria-prima utilizada.

Para Oliveira et al. (2008) a presença de microrganismos vem se tornando inaceitável, quando se trata de manuseio e manipulação de alimentos, uma vez que os consumos de alimentos contaminados por coliformes totais e termotolerantes levam à gastroenterites que dependendo do grau de contaminação podem ser leves ou severas.

5 CONCLUSÃO

Das amostras analisadas no trabalho, todas estão de acordo com a legislação vigente quanto a análise de *Salmonella* sp., sendo que uma das amostras apresentou qualidade intermediária aceitável quando a *Estafilococcus* coagulase positiva e para *Escherichia coli* β -glucuronidase positiva.

A presença de microrganismos como a *Escherichia coli* β -glucuronidase positiva indica a contaminação fecal por meio de manipulação inadequada, carcaças contaminadas durante o processo de abate e condições precárias de produção. Assim como, a presença de *Estafilococcus* coagulase positiva representa má higiene do processamento, limpeza inadequada de equipamentos e utensílios, contaminação cruzada por ingredientes e temperatura não ideal dos alimentos durante o processamento.

Portanto, para o fornecimento de um alimento seguro ao consumidor, com a salubridade ideal, deve-se ter o conhecimento e uso de manipulação adequada em todos os estágios da elaboração, seguindo os princípios das Boas Práticas de Fabricação para os procedimentos fundamentais necessários para a produção de alimentos com qualidade desejável. É de fundamental importância que se utilizem práticas de higiene e que medidas sanitárias sejam seguidas e mantidas pelos estabelecimentos, sendo aplicadas e registradas, interligadas com outros sistemas de qualidade.

REFERÊNCIAS

- ALVES, F. S. F.; CHAPAVAL, L.; PINHEIRO, R. R. Enfermidades e microrganismos passíveis de transmissão pela carne, leite e derivados de caprinos e ovinos. **Embrapa Caprinos e Ovinos-Documents (INFOTECA-E)**, 2006.
- ANDREOLI, P. A. **Perfil bacteriológico e determinação da atividade de água de salame tipo italiano em três formas de comercialização no município de Niterói-RJ**. Dissertação apresentada ao Curso de Pós Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária. 2009.
- BALDINI, P.; CANTONI, E.; COLLA, F. Dry sausages ripening: influence of thermohygro-metric conditions on microbiological, chemical and physico-chemical characteristics. **Food Research International**, n. 33, p. 161-170, 2000.
- BALDUINO, R.; OLIVEIRA, A. S.; HAULY, M. C. de O. Cultura láctica mista com potencial de aplicação como cultura iniciadora em produtos cárneos. **Food Science and Technology** [online]. 1999, v. 19, n. 3 [Acessado 25 Abril 2022] , pp. 356-362. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0101-20611999000300011>>. Epub 21 Ago 2000. ISSN 1678-457X. <https://doi.org/10.1590/S0101-20611999000300011>.
- BARBOSA, R. G. **Fabricação de salame tipo hamburguês com substituição parcial de sódio**. Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Ciência dos Alimentos. 2009. Disponível em: <https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/5674/BARBOSA%2c%20ROBERTA%20GARCIA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- BECKER, A. K.; KIEL, G. Análise microbiológica de carne bovina in natura comercializada em supermercados de Cascavel-PR. **Revista Thêma et Scientia**, v. 1, n. 2, p. 149-155, 2011.
- BONACINA, M. S.; SILVA, G. S.; DALTOÉ, M. L. M. Avaliação da qualidade química e microbiológica de salame e linguiça colonial. **7º Simpósio de Segurança Alimentar e Nutricional**. 2020.
- BORGES, B. C. S. Produção do salame e principais defeitos (uma revisão). 2007. **Monografia**. Disponível em: https://bdm.unb.br/bitstream/10483/177/1/2007_BelimarCleydeSilvaBorges.pdf
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n. 12, de 2 janeiro de 2001. Regulamento Técnico Sobre Os Padrões Microbiológicos Para Alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília, 10 jan. 2001, n. 7-E, Seção 1. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/resolucao-12-de-2-de-janeiro-de-2001.pdf>. Acesso em: 15 nov. 2021.

_____. Instrução Normativa N° 60, de 23 de dezembro de 2019. Regulamento Técnico Sobre Os Padrões Microbiológicos Para Alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília**, Publicado em: 26/12/2019 Edição: 249 Seção: 1. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-60-de-23-de-dezembro-de-2019-235332356>

_____. Instrução Normativa n. 22, de 31 de julho de 2000. Regulamento técnico de identidade e qualidade de salame. **Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Brasília**. 2000.

_____. Portaria nº 1.004, de 11 de dezembro de 1998. Regulamento Técnico de Atribuição de Função de Aditivos e seus Limites Máximos de Uso para a Categoria 8 - Carne e Produtos Cárneos. **Diário Oficial da União, Brasília**. 1998. Disponível em: <https://sidago.agrodefesa.gov.gov.br/site/adicionaispropios/protocolo/arquivos/1448572.pdf>

BRINGHENTI, V.; GIOLO, M. P. Análise microbiológica de salames comercializados na feira do pequeno produtor de Cascavel-PR. **Revista Uningá**, v. 16, n. 1, 2008. Disponível em: <https://revista.uninga.br/uninga/article/view/677/325>

CASARIL, K. B. P. B. *et al.* Qualidade microbiológica de salames e queijos coloniais produzidos e comercializados na região sudoeste do Paraná. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável. RBAS**), v.7, n.2, p.75-85, 2017.

DEDUCH, G. **Desenvolvimento e avaliação físico-química do salame tipo italianinho com substituição parcial de cloreto de sódio**. 2018. 41 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2018. Disponível em: https://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/12404/1/LD_COALM_2018_2_03.pdf

DEGENHARDT, R. **Sobrevivência de *Listeria monocytogenes* em salame tipo italiano de baixa acidez, produzido sob condições brasileiras de fabricação**. Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Ciência dos Alimentos. 71 folhas. 2006. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/89063/244637.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

EMATER. (org.). **Selo Arte é lançado para desburocratizar a produção e venda de alimentos artesanais**. 2019. Elaborado por Taline Schneider. Disponível em: <https://www.estado.rs.gov.br/selo-arte-e-lancado-para-desburocratizar-a-producao-e-venda-de-alimentos-artesanais>. Acesso em: 14 set. 2021.

FEITOSA, T. Contaminação, conservação e alteração da carne. **Embrapa Agroindústria Tropical-Documents (INFOTECA-E)**, 1999.

FELDMANN, V. **Avaliação de linhagens bacterianas obtidas a partir do kefir como cultura iniciadora para produção de embutido cárneo fermentado**. 2015. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de

FELDMANN, Vanessa. **Avaliação de linhagens bacterianas obtidas a partir do kefir como cultura iniciadora para produção de embutido cárneo fermentado.** Programa de Pós-Graduação em Ciência De Alimentos, Farmácia, Belo Horizonte, 2015. Disponível em: https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/BUBD-9XTFQL/1/dissertacao_vanessa_feldmann_final.pdf

FILHO, V. J. R. G.; TEIXEIRA, S. C.; LOPES, E. S.; ALBUQUERQUE, A. H.; LIMA S. V. G.; HORN, R. V.; SILVA, C. R.; CARDOSO, W. M. Investigation of *Salmonella* spp. in backyard chickens (*Gallus gallus domesticus*) and eggs sold in free markets in the city of Fortaleza, Ceará. Semina: **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 4, p. 1855-1864, 2014. Disponível em: <file:///C:/Users/Usuario/Downloads/15088-82453-1-PB.pdf>

FORTUNA, J. L.; FRANCO, R. M. Uma revisão epidemiológica das principais alterações microbiológicas em produtos cárneos embutidos. **Revista Higiene Alimentar**. v. 19, n. 129. p. 35-42. 2005. Disponível em: <http://www.geocities.ws/prof.magoo/Artigos/ArtigoHA129Embutidos.pdf>

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da Segurança dos Alimentos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. Cap. 4. p. 193-294. Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/5698538/mod_resource/content/1/Microbiologia%20da%20Seguranca%20dos%20Alimentos%20-%20Stephen%20J.pdf

GORMLEY, F. J.; LITTLE, C. L.; GRANT, K. A. The microbiological safety of ready-to-eat specialty meats from markets and specialty food shops: a UK wide study with a focus on *Salmonella* and *Listeria monocytogenes*. **Food Microbiology**, v.27, n.2, p.243-249, 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20141942/>

GOTTARDO, Elisângela T. VIANA, Cibeli. BARCELLOS, Vinicius C. ZANETTE, Cristina M. BERSOT, Luciano dos S. Embutidos Cárneos Fermentados Artesanalmente Como Veículos de Micro-organismos Patogênicos de Importância para a Saúde Pública. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v. 29, n. 1, jan./jun. 2011

HOFFMANN, F. L.; GARCIA-CRUZ, C. H.; VINTURIM, T. M.; CARMELLO, M. T. Qualidade microbiológica de amostras de salame. **Boletim do CEPPA**, 15, 57-64. (1997). Disponível em: [file:///C:/Users/Usuario/Downloads/14035-47213-1-PB%20\(3\).pdf](file:///C:/Users/Usuario/Downloads/14035-47213-1-PB%20(3).pdf)

ISO 16649-2:2001. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of betaglucuronidase-positive *Escherichia coli*. **Part 2: Colony-count technique at 44 degrees C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta D-glucuronide**. Disponível em: <https://www.sis.se/api/document/preview/617603/>

ISO 6579-1:2017. Microbiology of the food chain – Horizontal Method for detection and enumeration and Serotyping of *Salmonella* - **Part 1: Detection of *Salmonella* spp.** Disponível em: <https://s27415.pcdn.co/wp-content/uploads/2020/01/64ER20-7/Microbial/3-ISO6579-2017-Microbiology-of-the-Food-Chain-Horizontal-Method-for-the-Detection-Enumeration-and-Serotyping-of-Salmonella.pdf>

ISO 6888-1:1999. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coagulase positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species). **Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium**. Disponível em:

<https://cdn.standards.iteh.ai/samples/76672/7eb35c28ea2943df81eaa8ef0c56bdc5/ISO-FDIS-6888-1.pdf>

JAUREGUY, F.; LANDRAUD, L.; PASSET, V.; DIANCOURT, L.; FRAPY, E.; GUIGON, G.; CARBONNELLE, E.; LORTHOLARY, O.; CLERMONT, O.; DENAMUR, E.; PICARD, B.; NASSIF, X.; BRISSE, S. Phylogenetic and genomic diversity of human bacteremic *Escherichia coli* strains. **BMC genomics**, 9 (1), 1-14.

2008. Disponível em: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1186/1471-2164-9-560.pdf>

MACEDO, R. E. F. **Utilização de culturas lácticas probióticas no processamento de produto cárneo fermentado**. 2005. 210 f. Tese de doutorado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

MAGNANI, A. L. **Efeito do cravo (*Syzygium aromaticum*) sobre *Salmonella* e *Staphylococcus aureus* em salame tipo italiano**. 2001. Disponível em: <https://www.locus.ufv.br/bitstream/123456789/10810/1/texto%20completo.pdf>

MAGRO, G. R.; KLEIN, C. S. Qualidade microbiológica de salames tipo colonial comercializados na cidade de Concórdia-SC: análise de *Salmonella*, coliformes totais e termotolerantes. **Embrapa Suínos e Aves-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2006.

MARTINS, R. Produção de Embutidos Crus-Curados (Salame). Dossiê Técnico. **Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro – REDETEC** 1/6/2006. Disponível em: <http://sbtr.ibict.br/dossie-tecnico/downloadsDT/Mjk=>

NASCIMENTO, R. D.; CAMPAGNOL, P. C. B.; MONTEIRO, E. S.; POLLONIO, M. A. R. Substituição de cloreto de sódio por cloreto de potássio: influência sobre as características físico-químicas e sensoriais de salsichas. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, 18(3), 297-302. 2008. Disponível em: <http://200.145.71.150/seer/index.php/alimentos/article/view/167/175>

NASCIMENTO, M.; CORBIA, A. C. G.; NASCIMENTO, E. R. Limitações da técnica de isolamento e enumeração de *Staphylococcus aureus*. **Embrapa Agroindústria de Alimentos-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2001.

OLIVEIRA, J. F. *et al.* Determinação espectrofotométrica de nitrito em produtos cárneos embutidos. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 11, n. 1, p. 19-31, 2017. Disponível em: <file:///C:/Users/Usuario/Downloads/377-3083-1-PB.pdf>

OLIVEIRA, Máira M. M. de, BRUGNERA, Danilo F. MENDONÇA, Alexandre T. PICCOLI, Roberta H. Condições Higiênico - Sanitária de Maquinas de Moer Carne, Mãos de Manipuladores e Qualidade Microbiológica da Carne Moída. **Ciênc. agrotec. Lavras**, v. 32, n. 6, p. 1893-1898, nov./dez., 2008

PEACOCK, S. J.; SILVA, I.; LOWY, F. D. What determines nasal carriage of *Staphylococcus aureus*? **Trends Microbiology**. 2001. Disponível em: https://www.sciencedirect.com.translate.google.com/science/article/abs/pii/S0966842X01022545?_x_tr_sl=en&_x_tr_tl=pt&_x_tr_hl=pt-BR&_x_tr_pto=sc

PEÑAHERRERA, P. **Manual de charcutería enfocado en la elaboración de fiambres y embutidos**. 2018. Tese de Doutorado. Quito: Universidad de Los Hemisferios, 2018. Disponível em: <http://dspace.uhemisferios.edu.ec:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/770/Tesis%20-%20Patricia%20Pe%c3%b1aherrera.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

PEREIRA, J. G.; BARCELLOS, V. C.; BERSOT, S. L. Disseminação de *Salmonella* no processamento industrial em pequena escala de salame tradicional. **Archives of Veterinary Science**, 24(1). (2019). Disponível em: [file:///C:/Users/Usuario/Downloads/61169-259402-1-PB%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/Usuario/Downloads/61169-259402-1-PB%20(1).pdf)

RECH, R. A. **Produção de salame tipo italiano com teor de sódio reduzido**. 2010. Disponível em: <file:///C:/Users/Usuario/Downloads/RECH,%20REGINA%20ALICE.pdf>

ROSSI, P.; BAMPI, G. B. Qualidade microbiológica de produtos de origem animal produzidos e comercializados no Oeste Catarinense. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 22, n. 2, p. 748-757, 2015. Disponível em: <https://periodicos.sbu.unicamp.br/ojs/index.php/san/article/view/8642505/10033>

SANTANA, E. H. W.; BELOTI, V.; ARAGON-ALEGRO, L. C.; MENDONÇA, M. B. O. C. Estafilococos em alimentos. **Arquivos do Instituto Biológico**, 77, p 545-554. (2020). Disponível em: <https://www.scielo.br/j/aib/a/NYmDcSBBJCdRdpyk5CQCXDm/?format=pdf&lang=pt>

SANTOS, S. M. **Qualidade microbiológica de salames artesanais e industrializados comercializados no Brasil: uma revisão sistemática**. Orientador: Manuella Rodrigues de Souza Mello. 2019. 20f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Medicina Veterinária) - Centro Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos, 2019.

SAMULAK, Renata L. ZANETTI, Giovana F.; RODRIGUES, Sabrina A. BITTENCOURT, Juliana V. M. **Condição Higiênico-Sanitária de Abatedouro Frigorífico e Fábrica de Embutidos no Estado do Paraná**. Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR Campus Ponta Grossa - Paraná - Brasil ISSN: 1981-3686/ v. 05, suplemento: p. 408-417, 2011

SHINOHARA, N. K. S; BARROS, V. B; JIMENEZ, S. M. C; MACHADO, E. C. L; DUTRA, R. A. F; FILHO J. L. L. *Salmonella* spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Ciência & Saúde Coletiva**, [s.l.], v. 13, n. 5, p.1675-1683, out. 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/csc/a/vzk44zy3zYQxMD5YN38jY4s/?format=pdf&lang=pt>

SILVA, M. P.; CAVALLI, D. R.; OLIVEIRA, T. C. R. M. Avaliação do padrão coliformes a 45°C e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e

Petrifilm EC na detecção de coliformes totais e *Escherichia coli* em alimentos. **Food Science and Technology**, v. 26, p. 352-359, 2006.

TERHORST, K. I. L.; SCHMITZ, J. A. K. **De porco a suíno: história da suinocultura e dos hábitos alimentares associados aos produtos dela derivados entre agricultores familiares do Vale do Taquari**. A agricultura familiar à mesa: saberes e práticas da alimentação no Vale do Taquari. Porto Alegre: Ed. UFRGS, 2007. Disponível em: http://repositorio.ufrgs.br:8080/bitstream/prefix/6316/1/A_agricultura_familiar_a_mesa.pdf#page=99

THOMÉ, B. R.; PEREIRA, M. G.; TOGNON, F. A. B.; MASSAROLLO, M. D.; FOLLADOR, F. A. C. Avaliação físico-química e microbiológica de salame tipo italiano. In: **Congresso Brasileiro De Engenharia Química-COBEQ**. Vol. 20, p. 01-08, 2014. Disponível em: <http://pdf.blucher.com.br.s3-sa-east-1.amazonaws.com/chemicalengineeringproceedings/cobeq2014/1777-17618-133253.pdf>

TUSSI, E. K.; LOCATELLI, P. P.; DA TRINDADE ALFARO, A. Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica do salame colonial comercializado em São Jorge Doeste-PR. **Synergismus Scyentifica UTFPR**, volume 3, Número 4, 2008. Disponível em: <file:///C:/Users/Usuario/Downloads/324-1189-1-PB.pdf>

VANZIN, C. **Efeitos adicionais de culturas sobre as características microbiológicas e capacidade de sobrevivência de 'Staphylococcus aureus' em salame tipo italiano**. São Paulo. 2002. Disponível em: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9133/tde-23082003-130654/publico/Vanzin.pdf>

WERLANG, G. O. **Processo tecnológico e presença de bactérias causadoras de Doença transmitida por alimentos em salames: revisão bibliográfica**. 2012. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/67863/000868868.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

WOORTMANN, E.; WOORTMANN, K. **O trabalho da terra**. Brasília: Editora Universidade de Brasília, 1997. Disponível em: <http://www.ellenwoortmann.pro.br/trabalhoterra.pdf>

ZOCHE, F.; BARCELLOS, V.C.; DOS SANTOS BERSOT, L. Microrganismos indicadores e *Salmonella* sp. em salames produzidos e comercializados na Região Oeste do Paraná. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 5, n. 1, 2011. Disponível em: [file:///C:/Users/Usuario/Downloads/639-2911-1-PB%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/Usuario/Downloads/639-2911-1-PB%20(1).pdf)