



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS ALIMENTOS**

**PARAHIDROXIFENILSALICILAMIDA E NATAMICINA NO
CONTROLE DE FUNGOS NA SUPERFÍCIE DE SALAMES TIPO
MILANO**

MESTRANDA

Celles Regina de Matos

ORIENTADOR

Prof. Dr. Ernani Sebastião Santana

**FLORIANÓPOLIS-SC
2009**

CELLES REGINA DE MATOS

**PARAHIDROXIFENILSALICILAMIDA E NATAMICINA NO
CONTROLE DE FUNGOS NA SUPERFÍCIE DE SALAMES TIPO
MILANO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos do Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência dos Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Ernani Sebastião Santana

**FLORIANÓPOLIS-SC
2009**

PARAHIDROXIFENILSALICILAMIDA E NATAMICINA NO CONTROLE DE
FUNGOS NA SUPERFÍCIE DE SALAMES TIPO MILANO

Por

Celles Regina de Matos

Dissertação aprovada como requisito para a obtenção do
título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciência
dos Alimentos, pela Comissão formada por:

Presidente:

Prof. Dr. Ernani Sebastião Sant'Anna

Membro:

Prof. Dr. Paulo Rogério Franchin

Membro:

Prof. Dr. César Damian

Membro:

Profa. Dra. Cleide Rosana Vieira Batista

Coordenadora:

Profa. Dra. Marilde Terezinha Bordignon Luiz

Florianópolis,
2009.

Dedico

Àqueles que desejam muito estudar, têm coragem para abrir caminhos,
entusiasmo para chegar lá e prazer em nunca parar.

À Juarês de Matos, Expedito Ferraz, Ivan Luiz Sommavilla, Gilson Pedro
Giacomini, Regina Biscaro Ansiliero, Odivar Clóvis Biscaro e Ivone Brandalise
Cantú, a quem pretendo demonstrar que mereci o que fizeram um dia por mim e
orgulhá-los hoje, por ter ido além.

Àqueles que me dão oportunidades nesta vida e com isso fazem de mim uma
profissional realizada e que sabe compartilhar.

Agradecimentos

À Paulo Rogério Franchin e Joaquim Goulart Nunes, pela oportunidade e apoio
concreto oferecidos,
À Empresa Perdigão S/A, por me ensinar muito, inclusive sobre os lugares, a vida
e as pessoas,
À Irinéia Maria Panatta, Antonio Roberto Dondoni, Amarildo José Moreira e Jorge
Vitali, pela lealdade e pela boa vontade comigo,
Ao meu orientador Prof. Dr. Ernani S. Santana, por reconhecer e valorizar meu
esforço perante a distância, o tempo, o trabalho,
À Antonio S. Klee Júnior, por sempre respeitar os caminhos que escolho,
Aos meus amigos bichos, Buddy Guy, Bessye, Malu, Nina, Bebel, Baby e Freddy,
pelo amor incondicional que me dão,
À equipe de Garantia de Qualidade em Mirassol D'Oeste, por trabalharem tanto
comigo e por torcerem tanto por mim, alguns ainda desde os tempos de Goiás,
À minha Mãe, por ter me ensinado a ser uma guerreira e a vencer.

DE MATOS, Celles Regina. **Parahidroxifenilsalicilamida e natamicina no controle de fungos na superfície de salames tipo Milano**. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

RESUMO

O estudo objetivou o controle da proliferação de fungos nas câmaras de maturação de salames tipo Milano através de dois métodos: Imersão dos envoltórios com natamicina e aplicando parahidroxifenilsalicilamida (PHPS) no ambiente, por fumigação, isoladamente e de forma combinada. A natamicina mostrou visualmente maior eficiência e rapidez na redução no número de colônias na superfície dos produtos. Usando a PHPS foi possível controlar melhor os fungos de ação altamente deletéria para os envoltórios. A PHPS demonstrou ação mais lenta, porém progressiva, potencializando seu efeito com a continuidade das aplicações. Isto pode ser devido ao modo de aplicação, que por ser fumigação, alcança todos os pontos da sala, já que as mesmas não possuem uniformidade em umidade relativa e temperatura. Com PHPS, as colônias formadas eram mais superficiais, de fácil remoção, o que tornou possível dispensar a operação de lavagem em 20% das peças testadas e quando foi combinado uso com a natamicina esse valor subiu para 44,66% das peças. Usando a natamicina, 53,28% das peças dispensaram a lavagem, porém as colônias remanescentes causaram danos aos envoltórios.

Palavras chave: PHPS; fungos; maturação; salames.

DE MATOS, Celles Regina. **Parahidroxyfenilsalicylamid and natamicyn in the control of fungi on the surface of Milan type salami.** 2009. Dissertation (Master's in Food Science) – PhD Program in Food Science, Santa Catarina State Federal University, Florianópolis.

ABSTRACT

The study has its purpose the control of proliferation of fungi in the maturation chambers of Milano type salami using two methods: Immersion in the wrap with application of natamicyn and using parahidroxyfenilsalicylamid (PHPS) in the environment by fumigation, alone and in combination. The natamicyn showed visually greater efficiency and speed in reducing the number of colonies on the surface of the products. Using the PHPS it could better control the highly deleterious action for the wraps of the fungi. The PHPS showed slower but gradually action, increasing its effect with the continuity of applications. This may be due to the mode of application that can be spraying, reaches all points of the room, as they do not have uniformity in relative humidity and temperature. With PHPS, the colonies were formed more superficial, easily removed, which made it possible to dispense the washing operation in 20% of the tested pieces and when was combined with natamicyn, this value raised up to 44.66% of the pieces. Using natamicyn, 53.28% of the pieces have dispensed the washing; however the remaining colonies caused damage to the wraps.

Key words: PHPS; fungi; maturation; salami.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	1
1 OBJETIVO GERAL	3
1.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
CAPÍTULO 1: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
INTRODUÇÃO	5
1 SALAME.....	5
1.1 SALAME TIPO MILANO - LEGISLAÇÃO.....	8
1.2 CULTURAS INICIADORAS.....	10
1.3 DEFUMAÇÃO, CURA, MATURAÇÃO E SECAGEM.....	17
1.4 MATURAÇÃO RÁPIDA.....	19
1.5 MATURAÇÃO LENTA.....	20
1.6 FUNGOS EM SALAME.....	21
1.6.1 Classificação dos fungos	23
1.7 AEROMICOLOGIA.....	28
1.8 FUNGOS TÓXICOS.....	30
1.9 ALTERAÇÃO EM SALAMES	31
1.10 NATAMICINA.....	35
1.11 PHPS	39
1.11.1 Composição.....	40
2 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	42
CAPÍTULO 2: PHPS E NATAMICINA NO CONTROLE DE FUNGOS NA SUPERFÍCIE DE SALAMES TIPO MILANO	45
INTRODUÇÃO	46
1 MATERIAL E MÉTODOS.....	49
1.1 ELABORAÇÃO DO SALAME TIPO MILANO.....	49
1.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	49
1.2.1. Método de aplicação da natamicina.....	50
1.2.2. Método de aplicação da PHPS	50
1.3. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....	51

1.4. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS.....	52
1.5. ANÁLISE SENSORIAL (VISUAL)	52
2 RESULTADOS	53
2.1.- ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	53
2.2. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS.....	54
2.3. ANÁLISE SENSORIAL (VISUAL)	55
3 DISCUSSÃO E CONCLUSÃO	57
4 BIBLIOGRAFIA	60
5 CONCLUSÕES FINAIS.....	62
6 TRABALHOS FUTUROS	63
ANEXO I.....	65
ANEXO II.....	73
ANEXO III.....	75

LISTAS DE TABELAS

CAPÍTULO 1: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
Tabela 1: Valores de pH mínimos para o crescimento de diversas espécies microbianas.....	12
Tabela 2: Micro-organismos utilizados ou propostos como culturas iniciadoras para produtos cárneos	14
Tabela 3: Diferentes condições de armazenamento propostas para a maturação de salames.....	20
Tabela 4: Classificação dos fungos relativa à reprodução (resumo).	24
Tabela 5: Níveis médios de contaminação do ar.....	29
CAPÍTULO 2: PHPS E NATAMICINA NO CONTROLE DE FUNGOS NA SUPERFÍCIE DE SALAMES TIPO MILANO	45
Tabela 1. Tratamentos realizados com PHPS nas câmaras de maturação.....	51
Tabela 2: Resultados de análises microbiológicas em amostras de salame submetidas aos diferentes tratamentos realizados	53
Tabela 3: Resultados físico-químicos em amostras de salame submetidas aos diferentes tratamentos realizados	54
Tabela 4. Resultados sensoriais em amostras de salame submetidas aos diferentes tratamentos realizados	56
ANEXO I.....	65
Tabela 1: Defeitos na carne fresca, embalada a vácuo e embutidos crus	65
Tabela 2: Limites de temperatura do crescimento de micro-organismos	65
Tabela 3: Limites de pH para o crescimento microbiano.....	67
Tabela 4: Alguns gêneros contendo espécies ou cepas lipolíticas.....	69
Tabela 5: Principais grupos de alimentos de acordo com a atividade de água (Aw).....	69
Tabela 6: Valores aproximados de atividades de água mínimas para o crescimento de micro-organismos	70

INTRODUÇÃO

Durante o processo de maturação do salame, a proliferação de fungos e leveduras é fato comum, sendo que os gêneros *Penicillium* e *Aspergillus* são os encontrados mais facilmente. O recobrimento pelos fungos auxilia no controle da incidência de luz sobre o embutido e entrada de oxigênio, preservando-o da rancificação, mas se em excesso, poderá conduzir a problemas de aroma e sabor causados pela ação exacerbada de suas enzimas proteolíticas e lipolíticas (TERRA, 1998). A associação entre os aromas característicos e o recobrimento externo por fungos em salames foi estudado por Meynier, Novelli, Chizzolini, Zanardi, Gandemer (1998), que não encontraram nenhum aroma característico, dos salames estudados, relacionados aos fungos e leveduras da superfície dos mesmos. De acordo com Prandl, Fischer, Schmidhorfer, Sinnel (1994), a proliferação de fungos indesejáveis pode desencadear situações de risco à saúde humana, como no caso da proliferação de fungos tóxicos. Dada a extraordinária difusão dos fungos tóxicos, deve-se considerar que todos são suspeitos de poder alterar a saúde do consumidor.

Com a perspectiva de produção de salames que não inclui em sua tecnologia a inoculação de fungos durante a maturação e que se destina a mercados que não requerem recobrimento superficial por fungos no produto final, torna-se necessário controlar a proliferação de fungos nativos durante o processo produtivo. Neste contexto, o presente estudo avaliou o controle fúngico exercido pela natamicina e pela parahidroxifenilsalicilamida (PHPS), na superfície de salames tipo Milano. A PHPS é um princípio ativo desenvolvido inicialmente para a aplicação farmacêutica, sendo denominada “Osalmida”, do grupo químico “Driol”. O princípio ativo PHPS age quimicamente por meio do bloqueio dos espaços membranários dos intercâmbios entre as células e tem seu espectro biocida sobre as leveduras e os fungos, conferindo ausência de imunidade dos micro-organismos por ação de múltiplos espaços. O efeito químico promove a destruição microbiana no ar e sobre as superfícies e o efeito físico, o saneamento do ar por sedimentação das partículas no ar¹. A PHPS é 99% eficiente contra o

¹ Fumispore. Disponível em:

http://www.norpacific.com.br/dicas/docs/104apreseo_fumispore_shock2_port.pdf

gênero *Penicillium* e diversas de suas espécies (*candium*, *chrysogenum*, *cyclopium*, *expansum*, *italicum*, *nalgiovensis*); é também atuante contra o gênero *Mucor* (espécies *hiemalis*, *mucedo*, *aphaerosporus*, *racemosus*); atua igualmente sobre o gênero *Aspergillus* e algumas de suas espécies como: *flavus*, *fumigatus*, *glaucus*, *niger*, *parasiticus*, *versicolor*; possui ação também sobre as leveduras, entre elas, *Debaryomyces hansenii*, *Candida albicans*, *Rhodotorula rubra*, *Saccharomyces cerevisiae*¹. A natamicina é um antibiótico macrolídeo poliênico, antifúngico, produzido pela ação de enzimas *Polyketide Synthase* (PKSs) do *Streptomyces natalensis* ATCC 27448, num processo similar com a biosíntese de ácidos graxos e que é amplamente usado na indústria de alimentos para prevenir a contaminação de fungos (MENDES; RECIO; FOUCES; LUITEN; MARTÍN; APARICIO, 2001). É um antibiótico polieno, faz distender a parede celular pela ligação com esteróis da membrana citoplasmática (MATTIA; CERNIGLIA; BAINES, (sd)). O mecanismo de ação da natamicina é de ruptura do ergosterol da membrana fúngica, com perda do conteúdo (THOMAS; INGRAM; BEVIS; BRIGHTWELL; WILSON; DELVES-BROUGHTON, 2005). O uso do antibiótico natamicina é indicado na proteção externa de alguns alimentos, contra os fungos. Seu uso não está autorizado na Comunidade Européia, mas está aprovado na Espanha, de uma forma transitória. Também está autorizado o uso nos Estados Unidos e outros países. Na Espanha é utilizado na superfície de queijos, chorizo, salames e presuntos curados (MIGLIANELLI, 2005). Em 2002 a Organização Mundial da Saúde (OMS) reavaliou a natamicina, os resultados de toxicidade e segurança da natamicina e de seus produtos de degradação. A conclusão alcançada foi muito positiva (THOMAS; INGRAM; BEVIS; BRIGHTWELL; WILSON; DELVES-BROUGHTON, 2005).

Sem reduzir o padrão de umidade relativa na maturação, porquanto se pretendia obter um produto final com características diretamente relacionadas à umidade relativa, o presente trabalho avaliou a natamicina e a PHPS no controle de fungos nativos deletérios para os envoltórios, durante a maturação de salames tipo Milano.

¹ Fumispore. Disponível em:

http://www.norpacific.com.br/dicas/docs/104apreseo_fumispore_shock2_port.pdf

1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o controle fúngico exercido pela natamicina e pela PHPS na superfície de salames tipo Milano, obtendo um produto final com características diretamente relacionadas ao controle submetido na maturação lenta, com os mesmos parâmetros de processo.

1.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1.1.1 Obter o controle da microbiota fúngica nativa na superfície dos salames por meio da sua redução ou eliminação, buscando minimizar seus efeitos deletérios sobre os envoltórios;
- 1.1.2 Reduzir a necessidade de lavar e secar os salames para remover a contaminação fúngica, após a maturação, antes da embalagem final das peças.

CAPÍTULO 1: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

CAPÍTULO 1: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

INTRODUÇÃO

Este capítulo tem por objetivo fazer um levantamento bibliográfico sobre a ação dos fungos durante a maturação dos salames tipo Milano, notadamente sobre a microbiota nativa que se desenvolve sobre a superfície dos envoltórios. Pretende-se avaliar a ação do controle exercido pela natamicina e pela PHPS, que possuem mecanismo de ação e forma de aplicação diferentes entre si.

A microbiota nativa constatada tem causado danos aos envoltórios, percebidos por meio de manchas esbranquiçadas que não podem ser removidas nem com a lavagem e levando a perfurações nos envoltórios em algumas das vezes, resultando em perdas na produção.

Por conta disso, na tentativa de manter o padrão de qualidade, os salames são lavados e secados novamente ao final da maturação mas as perdas não são recuperadas e o processo produtivo estende-se com isso por mais 2 ou 3 dias, prejudicando o rendimento e elevando o custo de produção.

Com este experimento pretende-se encontrar uma possibilidade de manter os parâmetros do processo de produção do salame tipo Milano, resultando produtos sem manchas e perfurações nos envoltórios, causadas pela microbiota fúngica nativa, controlando a proliferação com o uso da natamicina ou da PHPS, no uso isolado ou de modo combinado.

1 SALAME

O salame é uma especialidade que se originou no continente europeu e seu nome provém da cidade de Salamis, na costa oeste da ilha grega de Cypros, destruída há mais de 200 anos (GRIS; BORTOLUZZI; SANTO; DAMIAN, 2002).

É um embutido cru, curado, fermentado, maturado e dessecado que poderá ser ou não submetido à defumação. Em nosso país, as características de

identidade e qualidade de oito tipos de salames estão definidas, e a diferenciação entre eles está no tipo de matéria-prima, na granulometria da carne e do tocinho, com ênfase na condimentação (BRASIL, 2000).

Os embutidos fermentados, como os salames, são caracterizados pelas suas propriedades organolépticas, nutricionais, químicas e microbiológicas. Dois fatores básicos tornam este produto diferente dos demais embutidos: baixo teor de umidade e presença de ácido láctico, o que lhe confere sabor característico (BACUS, 1984).

A produção de salames no Brasil foi baseada nos antigos processos de produção trazidos pelos imigrantes italianos (YAMADA, 1995).

Diferentes processos de elaboração e maturação vêm sendo desenvolvidos, mas a preferência no consumo do produto no Brasil corresponde aos salames do Mediterrâneo. Sua fermentação é relativamente demorada e os valores de pH são sempre superiores a 5,0, conferindo ao produto aroma e sabor característicos (DEMEYER; STAHNKE, 2002 apud TERRA, 2003).

Na formulação de salames se busca obter o desenvolvimento de sabor, aroma, boa estabilidade da cor, inibição de micro-organismos indesejáveis e rápida secagem do produto (YAMADA, 1995).

No intuito de controlar fungos, substâncias são aplicadas na superfície de salames. A natamicina é um antibiótico de baixa toxicidade, não alergênico, não desenvolve resistência, aprovado pela OMS (Organização Mundial da Saúde) e pela legislação brasileira, é empregado em diversos países no controle de fungos de diversos tipos de alimentos (THOMAS; INGRAM; BEVIS; BRIGHTWELL; WILSON; DELVES-BROUGHTON, 2005).

O monitoramento do aspecto sensorial se revela instigante, uma vez que a contribuição de fungos e de leveduras, especialmente a *Debaromyces hansenii*, na formação do sabor e aroma, é bastante discutida cientificamente. Nota-se alguma divergência entre autores, no que se refere à contribuição do *Debaromyces hansenii* para as características sensoriais. A aplicação do fungo *Penicillium nalgiovense* e da levedura *Debaromyces hansenii* na superfície do salame colabora na formação do sabor e aroma pela formação de compostos voláteis através de um conjunto de enzimas tais como desaminases, transaminases e desidrogenases (FERNÁNDEZ et al., 2001 apud TERRA, 2003).

A contribuição do *Debaromyces* spp para a proteólise de embutidos fermentados e seu efeito sobre características sensoriais tem sido escassamente estudadas. Parece haver alguma dúvida se de fato a proteólise que o micro-organismo faz contribui e se esta contribuição é significativa (OLESEN; STAHNKE, 2000 apud DURÁ; FLORES; TOLDRÁ, 2004).

Importantes diferenças no conteúdo de aminoácidos livres podem ser atribuídas à atividade do *Debaromyces* spp quando detectado no embutido final e assim, ele terá um alto impacto nas propriedades sensoriais finais de embutidos fermentados (DURÁ; FLORES; TOLDRÁ, 2004).

Saliente-se o fato de que a deposição externa tanto do fungo como da levedura regula não somente a entrada do ar (rancificação) como da luz, potente catalisador da rancificação do toucinho (TERRA, 1998).

A maior parte do sabor e aroma é dada pelo processo de maturação. Nesse processo ocorre ação das enzimas da microbiota, a ação de enzimas próprias da carne e também uma decomposição de proteínas, produzindo aminoácidos de sabor intenso e peptídeos característicos. Também ocorre uma alteração nas gorduras, devido à hidrólise enzimática. Depois de curto período de secagem, essas reações são inibidas e daí por diante, continuam pelo processo de auto-oxidação. Assim, as gorduras continuam a ser desdobradas em outros ácidos graxos de cadeia menor, produzindo um grande número de aldeídos que dão o sabor e o aroma característicos desse produto (YAMADA, 1995).

No que se refere à formação dos compostos aromáticos, a adição de nitratos, nitritos, ascorbatos e fatores ambientais claramente têm influência positiva no aroma final do produto (OLESEN; STAHNKE, 2003; OLESEN; STAHNKE, 2004; OLESEN et. al., 2004 apud LEROY; VERLUYTEN; VUYST, 2006).

O sabor e aroma típicos de embutidos secos é resultado de bactérias e de enzimas musculares que metabolizam carboidratos, proteínas e lipídios, somando-se ao efeito de especiarias. No Norte Europeu, a maior influência no sabor e aroma é do ácido láctico; o ácido acético é também presente e necessário em baixas concentrações para o sabor e aroma de embutidos secos de cura rápida. Outros ácidos têm presença em quantidade muito baixa. O teor de ácidos graxos livres durante a maturação afeta também, gradativamente, o sabor e

aroma (ERKILLA; PETÄJÄ; EEROLA; LILLEBER; MATTILA-SANDHOLM; SUIHK, 2000).

A utilização de culturas iniciadoras torna-se essencial não somente para o controle de micro-organismos deteriorantes e patogênicos, como muito especialmente para refinar o sabor, aroma e textura. Diferentes culturas iniciadoras resultam em diferentes características sensoriais em embutidos secos. Novas cepas têm sido selecionadas para cultivos iniciadores para contribuir na qualidade das propriedades sensoriais no produto final (ERKILLA; PETÄJÄ; EEROLA; LILLEBER; MATTILA-SANDHOLM; SUIHK, 2000).

Além disso, o aroma e sabor típico do salame são produzidos por meio de um complexo processo com a participação da fermentação dos carboidratos, proteólise, lipólise, oxidação lipídica, condimentos, sais de cura e outros (DEMEYER et al., 2000 apud TERRA, 2003). O papel desempenhado pela lipólise é de fundamental importância, tendo em vista que os ácidos graxos liberados servirão de substrato para as mudanças oxidativas responsáveis pelo desenvolvimento do aroma. Estes ácidos graxos liberados são predominantemente, altamente insaturados, cuja oxidação produzirá aldeídos e cetonas (SELGAS et al., 1986 apud TERRA, 2003).

1.1 SALAME TIPO MILANO - LEGISLAÇÃO

A descrição legal deste produto é: "...produto cárneo industrializado, elaborado de carnes suínas e bovinas, toucinho, adicionado de ingredientes, com granulometria média entre 3 e 6 mm, embutido em envoltórios naturais ou artificiais, curado, defumado, fermentado, maturado e dessecado por tempo indicado pelo processo de fabricação..." (BRASIL, 2000).

Os padrões físico-químicos do salame tipo Milano incluem a atividade de água (máximo: 0,85-0,90), a umidade (máximo: 35%), a gordura (máximo: 35%), a proteína (mínimo: 23%) e os carboidratos totais (máximo: 4,0%).

São padrões microbiológicos do salame tipo Milano (ANVISA, 2001), para amostra indicativa: *Coliformes* a 45°C: 1×10^3 UFC.g⁻¹; *Staphylococcus* coagulase positiva: 5×10^3 UFC.g⁻¹; *Salmonella*: ausência em 25g.

Tanto carnes quanto toucinho podem ser trabalhadas resfriadas ou congeladas. O preparo da massa pode ser em moedor e misturador ou em cutter. Para o corte perfeito, é importante usar temperaturas baixas para a carne e o toucinho (no início entre -5 e -8°C e ao final, entre -3 e -2°C). Temperaturas excessivamente baixas podem acarretar problemas no embutimento (YAMADA, 1995).

A escolha de gorduras firmes para a elaboração de salames é um aspecto fundamental. Gorduras de maior ponto de fusão, porquanto mais saturadas, com menor teor de ácidos graxos livres e de preferência, de cadeia longa, são desejáveis. Gorduras mais macias como as do ventre possuem maior teor de ácidos graxos com ponto de fusão mais baixo e estas se fundem durante o corte, rancificam mais facilmente, pelo alto teor de ácidos graxos insaturados livres (YAMADA, 1995).

Entre os fatores endógenos que contribuem para a redução da conservação das gorduras, estão: lipases tissulares, conteúdo em ácidos graxos insaturados, que varia muito dependendo do tipo de alimentação, deficiência de catalase tissular, os compostos hematínicos, a falta de vitamina E e a umidade (PRANDL; FISCHER; SCHMIDHORFER; SINELL, 1994).

Recomenda-se a utilização do toucinho costal-lombar pela uniformidade na sua composição em ácidos graxos (saturados: insaturados) (YAMADA, 1995).

Fatores exógenos contribuem para a redução na conservação das gorduras. Micro-organismos lipolíticos, micro-organismos lipoxidantes, ação da luz, presença de oxigênio, as altas temperaturas, os metais (cobre, ferro, cobalto, manganês) e seus sais, os lipocromos (carotenóides), o sal comum e os sais de cura (PRANDL; FISCHER; SCHMIDHORFER; SINELL, 1994).

A lipólise é considerada de importância central na formação de aroma nos salames. É desencadeada por lipases e bactérias com atividade lipolítica, em particular, pelos estafilococos. Ácidos graxos de cadeias curtas levam a um forte odor de queijo (LEROY; VERLUYTEN; VUYST, 2006).

O uso de *Staphylococcus (xylosus e carnosus)* em culturas iniciadoras melhora a formação de sabor e aroma e isso vem principalmente, da degradação de carboidratos, catabolismo de aminoácidos e beta-oxidação de ácidos graxos. Também, sua atividade de catalase previne a oxidação de ácidos graxos e

indiretamente, isso contribui no sabor e aroma. Os níveis de voláteis produzidos dependem da cepa usada (TEJNER; STHANKE; ANDERSEN; MARTINUSSEM, 2003).

Na obtenção do sabor, age também o sal, que faz a solubilização das proteínas miofibrilares e a redução da atividade de água; na estabilização da cor, atuam os nitritos e nitratos, formando o óxido nitroso e participando da formação do aroma e sabor típicos, além de participar da conservação do produto (YAMADA, 1995).

As técnicas de maturação e secagem dos embutidos proporcionam boa margem de segurança alimentar a estes produtos e a formulação costuma contribuir neste aspecto. Para incrementar a segurança, modificações de processo estão sendo feitas no sentido de melhorar a redução de atividade de água (estendendo a maturação) ou na redução do pH (usando bactérias iniciadoras acidificantes, GDL – Glucona-Delta-Lactona) ou usando substâncias com atividade antibacteriana efetiva (ácidos orgânicos, bacteriocinas) (BARBUTTI; PAROLARI, 2002).

1.2 CULTURAS INICIADORAS

Deve-se enfatizar que o desempenho da cultura iniciadora selecionada deve ser visto no contexto da aplicação, considerando que funcionalmente dependerá do tipo de embutido, da tecnologia aplicada, do tempo de maturação e dos ingredientes e matérias primas usadas (LEROY; DE VUYST, 1999 apud LEROY; VERLUYTEN; VUYST, 2006).

A aplicação da técnica das culturas iniciadoras na fabricação de produtos cárneos se iniciou em 1919 com a recomendação de utilizar leveduras do gênero *Debaryomyces* nos embutidos crus, mas só alcançaram a esfera comercial no início dos anos 60 (CORETTI, 1975 apud PRANDL; FISCHER; SCHMIDHORFER; SINELL, 1994).

Temos o conhecimento que desde 1950, na época do Professor F. P. Niinivaara, culturas iniciadoras cárnicas vem sendo usadas para melhorar a qualidade e segurança de produtos fermentados. No Norte da Europa, são

usadas cepas que produzem suficiente ácido láctico para uma redução de pH para valores entre 4,8-5,0 e esses valores de pH são importantes para a segurança, textura e cor dos embutidos secos (KROCKEL, 1995 apud ERKILLA; PETÄJÄ; EEROLA; LILLEBER; MATTILA-SANDHOLM; SUIHK, 2000).

As culturas iniciadoras, empregadas para acelerar o processo de maturação e formação do aroma, não prejudicam a saúde e são usadas tanto puras como combinadas (YAMADA, 1995).

Os micro-organismos usados como culturas iniciadoras podem ser agrupados em dois grandes grupos: bactérias lácticas responsáveis, principalmente, pelo processo de acidificação, e os micro-organismos ditos flavorizantes ligados à coloração, aroma e sabor do embutido fermentado. O primeiro grupo é formado pelos *Lactobacillus* e *Pediococcus*, enquanto o segundo é formado por componentes das *Micrococcaceae*, tais como *Staphylococcus xylosus* e *Staphylococcus carnosus* (TERRA, 1998).

Geralmente se tratam de espécies de micrococcos nitrato redutores ou de espécies bacterianas produtoras de ácido láctico a partir de açúcar. Os preparados podem ser monocultivos (espécies de *Micrococcus* ou de *Lactobacillus*, *Pediococcus cerevisiae*, *Leuconostoc*) ou mesclas de duas ou mais destas espécies de micro-organismos. A cultura iniciadora só pode desenvolver toda a sua capacidade quando está adaptado ao seu meio específico, como ocorre, por exemplo, nos embutidos crus, e quando não são inibidas pela microbiota já existente na massa do embutido (PRANDL; FISCHER; SCHMIDHORFER; SINELL, 1994).

Bactérias lácticas, micrococcos e estafilococos coagulase negativa possuem as mais relevantes taxas no processo de fermentação e maturação, mas também leveduras e fungos podem estar envolvidos. Os mais recentes estudos sobre salames registram que o *Debaromyces hansenii* foi a levedura mais frequentemente isolada. Mais recentemente, várias pesquisas confirmaram estes resultados, mas outros gêneros de leveduras foram encontrados, como a *Candida*, *Pichia* e *Rhodotorula* (GARDINI; SUZZI; LOMBARDI; GALGANO; CRUDELE; ANDRIGHETTO; SCHIRONE; TOFALO, 2001).

Deseja-se que as culturas iniciadoras sejam dominantes frente à microbiota espontânea. Devem estar adaptados ao meio (exibirão certa tolerância ao sal

comum e nitritos) e serem capazes de crescer a temperaturas relativamente baixas. Entre as propriedades mais desejáveis figura a atividade catalase, que lhes permitirá desdobrar o peróxido de hidrogênio formado por certas bactérias lácticas, bem como se pode evitar desvios de cor e sabor. E devem ser inócuas para a saúde. Entre os derivados de carne, os embutidos secos fermentados são tidos como pratos prontos, cuja segurança alimentar está na razão da diminuição da atividade de água que é necessária para o crescimento da maioria dos patógenos e pela queda do pH (BARBUTTI; PAROLARI, 2002).

A Tabela 1 resume os valores de pH mínimo necessário para o desenvolvimento de micro-organismos segundo suas espécies.

Tabela 1: Valores de pH mínimos para o crescimento de diversas espécies microbianas

Micro-organismo	pH Mínimo
<i>Bacillus spec</i>	4,9 - 5,5
<i>Clostridium perfringens</i>	5,5
<i>Clostridium botulinum</i> , tipos C e E	5,0
<i>Clostridium botulinum</i> , tipo A e B	4,6
<i>Pseudomonas spec.</i>	5,0
<i>Staphylococcus aureus</i> , crescimento	4,0 - 4,5
<i>Staphylococcus aureus</i> , formador toxina	4,5 - 5,0
<i>Enterobacteriaceae</i>	4,5 - 5,0
<i>Salmonella spec.</i>	4,0 - 4,5
Leveduras, fungos	2,0

Fonte: PRANDL, 1994.

As bactérias lácticas utilizadas como culturas iniciadoras na elaboração de produtos cárneos são homofermentativas, formam a partir da glicose e outros açúcares essencialmente ácido láctico, responsável por sua vez, em boa parte, pela aceleração da maturação. A diminuição gradativa do pH favorece a coloração e a consistência dos embutidos crus. A acidificação também inibe o crescimento de micro-organismos indesejáveis. O *L. sakei* e/ ou *L. curvatus* dominam o processo de fermentação nos embutidos europeus fermentados espontaneamente. O *L. sakei* é o mais competitivo de ambas as cepas, representando frequentemente a metade de 2/3

de todas as bactérias láticas isoladas de embutidos fermentados espontaneamente, enquanto o *L. curvatus* representa geralmente a quarta parte de todas as isoladas. Em embutidos fermentados dos Estados Unidos, os *Pediococcus* são mais freqüentes que nos europeus e são adicionados em culturas iniciadoras com o fim de acelerar a acidificação da mistura de carnes (LEROY; VERLUYTEN; VUYST, 2006).

O segundo grupo essencial compreende espécies do gênero *Micrococcus*. Além do desdobramento do peróxido de hidrogênio e a melhora de aroma, sua principal ação é a redução dos nitratos. Os micrococos são capazes, portanto, de reduzir tanto os nitratos adicionados quanto os originados por oxidação do nitrito. Estas são ações positivas sobre a cor e aroma dos curados. Em virtude dos efeitos antioxidativos e antimicrobianos, resultam anulados os micro-organismos responsáveis por intoxicações alimentares. Quando se utiliza sal de nitrito, também resulta favorecida a combinação das culturas iniciadoras redutoras dos nitratos e as bactérias láticas. Estafilococos coagulase negativa e *Kocuria* são cocos gram positivos, catalase positivos, e participam de reações desejáveis durante a maturação e secagem de embutidos fermentados e secos, como na estabilização da cor, decomposição de peróxidos, proteólise e lipólise (LEROY; VERLUYTEN; VUYST, 2006).

O uso de *Staphylococcus carnosus* e *Staphylococcus xylosus* em culturas iniciadoras está permitido pelas leis italianas. Enfatiza-se também que a atividade nitrato redutase e catalase são consideradas as mais importantes propriedades dos estafilococos para serem usados como culturas iniciadoras na produção de embutidos fermentados (CASABURI; BLAIOTTA; MAURIELLO; PEPE; VILLANI, 2005).

A ação dos micrococos segue essencialmente a ordem seguinte: *Redução dos nitratos*: com a incorporação de nitrato, se produz sua redução até nitrito, com o qual se assegura o desenvolvimento de cor e o reforço da ação antimicrobiana frente aos micro-organismos indesejáveis. *Acidificação*: a partir dos hidratos de carbono disponíveis; esta reação acontece com grande rapidez e resulta menos eficaz se a oferta é de monossacarídeos (glicose). Fica retardada quando na presença de dissacarídeos (sacarose, lactose). Em relação ao *consumo de oxigênio*, pelo menos os representantes do gênero *Micrococcus*, pertencentes à família *Micrococcaceae*, são aeróbios obrigatórios o que se manifesta em um intenso crescimento observado especialmente nas regiões marginais, bem aeradas, dos embutidos crus maturados. O consumo de oxigênio faz reduzir o valor Eh (potencial redox), com o qual se estabiliza

a cor do curado e permite a produção de um meio microaeróbio, que por sua vez estimula o crescimento da microbiota restante e participante da maturação. Com a acidificação e consumo de oxigênio sobre os micrococos é exercido um efeito sinérgico sobre os lactobacilos e demais microbiota láctica. Então, acontecem reações lipolíticas com a qual as carbonilas geradas, contribuem com a produção dos aromas desejados de maturação. Uma suave ação proteolítica coagula a proteína muscular dissolvida entre as superfícies das partículas de carne e toucinho, com o que se consolida a massa do embutido e adquire consistência ao corte. Nem todos estes efeitos são atribuídos exclusivamente à presença de micrococos, mas se originam como resultado da ação conjunta controlada de todos os componentes presentes. Assim, na redução do nitrato, estabilização da cor, acidificação e no consumo de oxigênio tomam parte com preferência leveduras, enquanto os lactobacilos e especialmente *Pediococcus* contribuem com a acidificação. As leveduras crescem bem nas porções marginais dos embutidos, bem nas superfícies dos envoltórios, onde aparecem geralmente revestimentos farináceos e ressecados. A elas se associam fungos que se encontram regularmente nos salames franceses, italianos mesmo também em muitos embutidos crus franceses dessecados ao ar. Normalmente trata-se de espécies diversas de *Penicillium* (PRANDL; FISCHER; SCHMIDHORFER; SINELL, 1994).

A Tabela 2 contém os micro-organismos sugeridos como culturas iniciadoras a serem utilizadas no processo de elaboração de produtos cárneos fermentados.

Tabela 2: Micro-organismos utilizados ou propostos como culturas iniciadoras para produtos cárneos

Grupo	Família	Micro-organismo
Bactérias	<i>Lactobacillaceae</i>	<i>L. plantarum</i>
		<i>L. acidophilus</i>
		<i>L. casei</i>
		<i>L. fermenti</i>
		<i>L. brevis</i>
		<i>L. buchneri</i>
		<i>L. hispanicus CP-9</i>
		<i>L. lucanicarum B-3</i>

	<i>Micrococcaceae</i>	<i>M. varians</i>
		<i>M. sp. P 4</i>
		<i>M. sp. M 352</i>
	<i>Staphylococcus</i>	<i>S. carnosus</i>
		<i>S. xylosus</i>
		<i>S. simulans</i>
	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Escherichia sp</i>
		<i>Aerobacter sp</i>
		<i>Alcaligenes sp</i>
	<i>Achromobacteriaceae</i>	<i>Achromobacter sp</i>
		<i>Flavobacterium sp</i>
	<i>Pseudomonadaceae</i>	<i>Pseudomonas sp</i>
	<i>Vibrio</i>	<i>V. costicolus</i>
		<i>V. halodenitrificans</i>
	<i>Enterobactérias atípicas</i>	<i>L. curvatus</i>
		<i>L. sake</i>
	<i>Streptococcaceae</i>	<i>S. lactis</i>
		<i>S. diacetylactis</i>
		<i>S. acidilactici</i>
	<i>Pediococcus</i>	<i>P. cerevisae</i>
		<i>P. acidilactici</i>
		<i>P. pentosaceus</i>
	<i>Corynebacteriaceae</i>	<i>Corynebacterium</i>
	<i>Streptomycetaceae</i>	<i>S. griseus sensu Hütter</i>
		<i>Micromonospora</i>
Leveduras	<i>Saccharomycetaceae</i>	<i>D. kloeckeri</i>
		<i>D. hansenii</i>
		<i>D. canterelü</i>
		<i>D. pfaffii</i>
		<i>D. sp</i>
	<i>Saccharomyces</i>	
	<i>Candida</i>	

Fungos	<i>Penicillium</i>	<i>P. expansum</i>
		<i>P. miczynskii</i>
		<i>P. simplicissimum</i>
		<i>P. nalgiovensis</i>
		<i>P. camemberti</i>
	<i>Scopulariopsis</i>	<i>Scopulariopsis sp</i>
	<i>Chaetocladium</i>	

Fonte: CORETTI, 1977; EILBERG E LIEPE, 1977; LIEPE E SCHEFFOLD, 1978; ECKARDT E LEISTNER, 1979; LEISTNER et al., 1979; Deutsche Forschungsgemeinschaft, 1974; HECHELMANN, 1981; HAMMES et al., 1985 apud PRANDL, 1994.

Os estafilococos coagulase negativa são os mais influentes no desenvolvimento de propriedades sensoriais de embutidos fermentados, pela redução de nitrato a nitrito e dali a óxido nitroso, pela prevenção à rancificação através da decomposição de peróxidos e pela produção de compostos de aroma e sabor, originados da proteólise e lipólise (HAMMES; HERTEL, 1998 apud CASABURI; BLAIOTTA; MAURIELLO; PEPE; VILLANI, 2005; SONDERGAARD; STAHNKE, 2002 apud CASABURI; BLAIOTTA; MAURIELLO; PEPE; VILLANI, 2005).

A despeito de tantas possibilidades tecnológicas trazidas pelo uso das culturas iniciadoras, o uso delas gera polêmica entre consumidores. O uso de culturas iniciadoras comercialmente disponíveis podem também produzir um empobrecimento do sabor e aroma e uma perda das características organolépticas peculiares encontradas em embutidos naturalmente fermentados. Por esta razão, em vários países europeus, embutidos artesanais ainda são preferidos pelos consumidores e são produzidos pela maturação feita pela microbiota natural do estabelecimento (GARDINI; SUZZI; LOMBARDI; GALGANO; CRUDELE; ANDRIGHETTO; SCHIRONE; TOFALO, 2001).

O uso de embutideiras a vácuo permite um melhor embutimento da massa cárnea garantindo a extração de ar, o que favorece a compactação da mesma originando um produto sem defeitos (YAMADA, 1995).

Entre as vantagens do uso de tripas no desenvolvimento de produtos cárneos está a aparência que elas lhe conferem. O envoltório pode ser natural (trato digestivo de suínos, bovinos e ovinos) ou artificial (colágeno, fibras de

celulose, nylon ou de plástico). As naturais apresentam boa permeabilidade à fumaça, boa adesão da massa à superfície da tripa, menor separação da gelatina e gordura devido à alta permeabilidade, apresentam uniformidade e maquinabilidade desejáveis. O Brasil tem obtidos bons resultados na produção de tripas naturais e artificiais, equiparando-se ao padrão de qualidade internacional e importa apenas cerca de 40% das tripas celulósicas do tipo pequeno, a fim de atender ao mercado de salsichas e salames (FURTADO, 2003 apud ODA; SOARES; LARA; YAMASHITA; IDA; SHIMOKOMAKI, 2003).

1.3 DEFUMAÇÃO, CURA, MATURAÇÃO E SECAGEM

A defumação é usada com o propósito de aumentar a capacidade de conservação e modificar adequadamente a textura, o aspecto (cor), o aroma e o sabor dos alimentos. A defumação apresenta uma ação conservante limitada, por isso se deve combinar a defumação com outros procedimentos de conservação (cura, fermentação, secagem ou aquecimento). Os componentes da fumaça de ação inibitória sobre os micro-organismos são fundamentalmente o formaldeído, a creosota (mescla de guaiacol, metilguaiacol, cresóis e xilenóis), os fenóis e alguns ácidos como o ácido fórmico e o ácido acético. A ação inibitória da fumaça contra os micro-organismos é mais intensa naqueles lugares onde mais se concentram estas substâncias, que deve ser a superfície do alimento. Considera-se, portanto, que a defumação seja um método de conservação superficial (PRANDL; FISCHER; SCHMIDHORFER; SINELL, 1994).

A alguns componentes da fumaça atribui-se uma ação antioxidante. A defumação inibe, pois, a oxidação das gorduras nos produtos cárneos. Neste sentido, se supõe que os componentes ativos da fumaça, são, sobretudo, os fenóis e em menor grau, os ácidos orgânicos (PRANDL; FISCHER; SCHMIDHORFER; SINELL, 1994).

A cura é onde ocorre o desenvolvimento da cor e também a acidificação. É melhor que ocorra em câmaras climatizadas para poder controlar temperatura e umidade relativa. Os padrões praticados são bastante variados, dependendo das características do produto que se pretende obter, das condições de infraestrutura

disponíveis e da cultura local. A 16-18°C, são produzidos produtos de melhor qualidade, sabor e aroma. Entre 24-26°C todo o processo é acelerado, mas causa degradação de gorduras que são desfavoráveis ao sabor do produto. Nas primeiras 24 horas, a umidade relativa é de aproximadamente 95% e em seguida, cai gradativamente para cerca de 80%, para desenvolvimento da cor adequada e da acidificação. Para facilitar e agilizar a cura pode-se usar a glucona-delta-lactona e açúcares; também são usados como redutores, na formação de componentes estáveis de cor, o ácido ascórbico, ascorbato e eritorbatos (YAMADA, 1995).

O ascorbato atua bloqueando o desenvolvimento de nitrosaminas e influencia também no sabor e aroma de produtos curados. Igualmente, atua inibindo processos de auto-oxidação que levam à rancidez (ORDÓÑES, 2005).

Passada esta fase, sucede-se a fermentação, a fase mais longa do processo completo da produção de salames. É o momento em que ocorre a maioria das transformações físicas, bioquímicas e microbiológicas (BERIAIN et al., 1993 apud PRANDL; FISCHER; SCHMIDHORFER; SINELL, 1994). Estas são influenciadas pelas características da matéria-prima (BACUS; 1984) e do processo (RONCALÉS et al., 1991 apud PRANDL; FISCHER; SCHMIDHORFER; SINELL, 1994) presentes nas propriedades organolépticas do produto final (aroma e sabor, cor e textura), como também na conservação e segurança do embutido fermentado.

Entre a cura e a fermentação, as transformações físicas e bioquímicas causam a alteração na microbiota inicial, decréscimo nos valores do pH, redução do nitrato a nitrito para a formação da mioglobina nitrosa, solubilização e gelificação das proteínas miofibrilares e sarcoplasmáticas, proteólise, lipólise e fenômenos oxidativos, além da desidratação (LIZASCO et al., 1999 apud TERRA, 2003).

Neste processo de transformação, a ação das enzimas é determinante. Entre elas, a catepsina D é uma das proteinases endógenas que tem sido registrada como responsável pela proteólise durante o estágio de fermentação enquanto as proteinases bacterianas contribuem para a proteólise durante o estágio de secagem (VERPLAETSE et al., 1992 apud DURÁ; FLORES; TOLDRÁ, 2004).

Na literatura podem ser encontradas outras descrições do processo de cura e fermentação. Notam-se algumas diferenças na terminologia, especialmente entre os termos 'cura' e 'fermentação', havendo autores que denominam 'fermentação', o processo inicial, anteriormente denominado 'cura', por YAMADA (1995). Quanto às transformações físicas e bioquímicas, a descrição do processo é coincidente.

A fabricação do salame se dá em duas fases: na primeira, há a fermentação com a ocorrência simultânea de acidificação e formação da cor; a segunda fase consiste na desidratação como decorrência da fermentação. Ambas as fases acima ocorrem em câmara de maturação dotada de controles de temperatura, umidade relativa e velocidade do ar (FERNANDEZ et al., 2001 apud TERRA, 2003).

Notadamente, o processo de controle dos parâmetros como temperatura e umidade relativa são determinantes para o atingimento do padrão desejado. A possibilidade de regular a temperatura, a umidade relativa e a ventilação permite fabricar embutidos crus durante todo o ano, independente do clima. Por consistir a diferença com a maturação natural unicamente no controle do clima nos termos desejados, se chama também de maturação natural controlada. Nos modernos estabelecimentos de maturação (câmaras climatizadas) pode-se levar ao fracasso uma maturação programada graduando exatamente o curso total do processo. A maturação de embutidos crus pode levar-se a efeito tanto por procedimento lento quanto rápido (PRANDL; FISCHER; SCHMIDHORFER; SINELL, 1994).

1.4 MATURAÇÃO RÁPIDA

Na maturação rápida se trabalha na zona de temperatura que vai desde 22 até 26°C. Neste método se utiliza principalmente sal curante de nitrito, embora também seja possível a elaboração com sal comum ou nitrato potássico. Para conseguir uma rápida queda de pH pode-se incorporar o GDL (glucona-delta-lactona) e /ou culturas iniciadoras. Um suave sabor ácido e uma cor roxa viva de curado é característica de produtos embutidos que se obtiveram pela maturação

rápida (CORETTI et al., 1975, apud PRANDL; FISCHER; SCHMIDHORFER; SINELL, 1994).

A umidade relativa do ar se reduz paulatinamente em várias etapas no curso da maturação desde 95 até 75%. Os embutidos crus maturados rapidamente exibem a desejada consistência e apresentam condições de serem comercializados mais tardiamente em 10 dias (PRANDL; FISCHER; SCHMIDHORFER; SINELL, 1994).

1.5 MATURAÇÃO LENTA

Por maturação lenta se entende principalmente a prática de uma maturação a temperaturas relativamente baixas (< ou = 15°C), na qual discorre o processo de maturação com lentidão, exigindo por isso, maior tempo de elaboração. Os embutidos crus maturados lentamente são fabricados normalmente com sal comum e nitrato potássico. Também na maturação lenta se exige a princípio, umidade relativa do ar variando de 65 a 75%. A redução da umidade relativa ambiental se produz mais lentamente que na maturação rápida. Os embutidos crus maturados lentamente exibem melhor sabor, cor mais intensa e melhor conservação do mesmo. É também freqüente que os embutidos crus madurem em temperaturas médias de 15-20°C, com o qual conciliam vantagens e inconvenientes das maturações lenta e rápida. O salame francês matura também com umidade relativa mais baixa (PRANDL; FISCHER; SCHMIDHORFER; SINELL, 1994).

Compreendendo as condições de maturação diferentes de um estabelecimento para outro, propõem-se os valores apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Diferentes condições de armazenamento propostas para a maturação de salames

Duração (Dias)	Temperatura	Umidade Relativa Ambiente (%)
½	23°C	Seco
1	20°C	70 – 80

1	18°C	70 – 80
½	16°C	75 – 85

Fonte: RODEL; STIEBING, 1984 apud PRANDL, 1994.

Durante a secagem, a umidade relativa deve ser em torno de 76-82% e temperaturas de 15 a 18°C, ficando ali até que se atinja a consistência e grau de secagem desejados. Para se obter produtos de boa qualidade devemos utilizar, fundamentalmente, matérias primas obtidas em boas condições higiênico-sanitárias, de preferência carnes com gorduras que não estejam estocadas por muito tempo; usar instalações adequadas para um perfeito controle de temperatura, umidade, ventilação e equipamentos em perfeito estado de uso (YAMADA, 1995).

Além da busca pelo atingimento dos padrões organolépticos dos salames, a segurança alimentar é requisito fundamental para o consumidor, especialmente para um produto como o salame, que tem entre seus consumidores, as classes de maior poder aquisitivo e mais alta escolaridade. Alimentos de qualidade são a prioridade atual na Europa, compreendendo da fazenda até a mesa do consumidor. A produção de embutidos secos tradicionais conta com a contaminação que ocorre com a microbiota ambiental, que ocorre durante o abate até a sua produção. Esses micro-organismos favorecem a fermentação e o sabor dos embutidos, mas são também responsáveis por perdas e podem ser patogênicos. As perdas relatadas podem ser acima de 25%. A implantação da metodologia de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) é internacionalmente reconhecida como um modo efetivo de melhorar a segurança dos alimentos. Para a adoção do APPCC, é necessário aplicar como pré-requisito, as Boas Práticas de Fabricação - BPF (FADDA; AYMERICH; HUGAS; GARRIGA, 2005).

1.6 FUNGOS EM SALAME

Os fungos e as leveduras pertencem à mesma família e por seu tamanho microscópico são denominados *micromycetes*. Os fungos se encontram por todas

as partes (solo, água, plantas) e são transportados pelo ar, materiais, embalagens, animais, seres humanos. A maioria das indústrias alimentícias proporciona as condições ambientais e as matérias orgânicas necessárias para o seu desenvolvimento. Os *micromycetes* têm grande capacidade de adaptação e síntese bioquímica como também um potencial enzimático importante podendo ser agentes de transformações tanto úteis quanto prejudiciais¹.

A proliferação de fungos durante a fermentação de salames é favorecida pelas condições ambientais e pela disponibilidade de matéria orgânica. Deste fato procede a necessidade de entender como se dá a reprodução destes organismos e então desenvolver mecanismos de controle sobre o processo. A maioria se reproduz formando esporos através da meiose, durante a qual o número de cromossomos permanece o mesmo. Os esporos são produzidos assexuada ou sexuadamente. Os fungos se reproduzem basicamente por duas maneiras: Reprodução Sexuada e Multiplicação Vegetativa. Na reprodução sexuada o ovo formado por fusão dos filamentos dá lugar ao nascimento de esporos reagrupados; por germinação, estes esporos darão origem a um indivíduo diferente de seus congêneres, sendo uma mescla do patrimônio genético de cada um. É a chamada forma perfeita dos mofo. Esporos saídos de um ciclo de reprodução sexual são raramente encontrados nas indústrias agroalimentícias. Na multiplicação vegetativa, as células especializadas chamadas conidióforas nascem dos micélios e são os primeiros órgãos de disseminação. A germinação destes esporos dará origem a um fungo exatamente igual ao antecessor (herança genética inalterada). É a forma imperfeita dos fungos. A classificação dos fungos é relativa à reprodução².

Sobre o aparelho vegetativo dos fungos, sabemos que ela é simples, possuindo uma estrutura miceliana composta por filamentos chamados hifas. Este micélio produz esporos por reprodução sexual ou assexual (vegetativa). Em ambos os casos, os esporos são agentes de multiplicação. Alguns esporos produzidos pelo micélio possuem uma grande resistência devido a sua dura cobertura, como por exemplo, o *Mucor*. No caso da reprodução assexual (vegetativa) se observam esporangióforos e conidióforos que respectivamente

¹ Mohos en la industria alimentícia. Disponível em: http://www.norpacific.com.br/dicas/docs/005contaminacionalimenticia_part2_spanish.pdf

² Clasificación de los mohos. Disponível em: http://www.norpacific.com.br/dicas/docs/062_2.pdf

sustentam em seus extremos, esporângios e conídios. Nos fungos com esporângios, os esporos estão contidos nestas estruturas e são responsáveis pela cor dos fungos. As conídias são esporos que não estão protegidos¹.

Quanto à sua fisiologia e nutrição, é importante ressaltar que os fungos são exigentes quanto à umidade, mas se estiverem num ambiente desidratado, esporulam e permanecem como forma de resistência. Os esporos podem dispersar-se de maneiras diferentes: pelo ar, como as xerosporas (*Penicillium*, *Aspergillus*) ou por água ou umidade, como as mixosporas (*Mucor*, *Fusarium*)².

1.6.1 Classificação dos fungos

Phylum Zygomycota

Classe: *Zygomycetes*

Ordem: *Mucorales*

Família: *Mucoraceae*

Gêneros: *Mucor* (espécies patogênicas para humanos: *Mucor ranssimossus* e algumas espécies de *Rhizomucor*).

Phylum Ascomycota

Classe: *Deuteromycetes* (assexuais).

Ordem: *Eurotiales* (Filamentos *Ascomycetes*).

Família *Trichocomaceae*

Gêneros: *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Acremonium*, *Nigrospora*, *Zigosporium*, *Phitomyces*, etc.

Aspergillus fumigatus, *A. flavus* e *A. niger* são os mais comuns agentes causadores de doenças coletivamente conhecidas como Aspergiloses. O micélio do gênero *Aspergillus*, enquanto jovem e vigoroso, produz conidióforos em abundância.

Penicillium: ausência de reprodução sexual, esporos com pequena resistência à ultravioleta, complexo *Penicilli* e habilidade para crescer em baixas temperaturas e baixo potencial de água. Conídios desenvolvidos em espécies de *Penicillium* são muito parecidos com aqueles produzidos pelo *Aspergillus*, mas a

¹ Mohos en la industria alimentícia. Disponível em:
http://www.norpacific.com.br/dicas/docs/005contaminacionalimenticia_part2_spanish.pdf

organização morfológica da estrutura do conidióforo difere (ALEXOPOULOS; MIMS; BLACKWELL, 1996).

A classificação dos fungos, relativa à reprodução, pode ser descrita de forma resumida, conforme Tabela 4.

Tabela 4: Classificação dos fungos relativa à reprodução (resumo).

Classificação	Reprodução
Classe: <i>Zygomycetes</i>	Multiplicação vegetativa por esporocitosporos. Exemplo: <i>Rizopus</i> , <i>Mucor</i> .
Ordem: <i>Eurotiales (Ascomycetes)</i>	Multiplicação vegetativa por conídios. Reprodução por esporos reunidos. Exemplo: <i>Eurotium</i> , <i>Aspergillus glaucus</i> .
Classe: <i>Deuteromycetes</i>	Multiplicação vegetativa por conídios: fungos imperfeitos. Exemplo: <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Cladosporium</i> .

Fonte: Clasificación de los Mohos.

Quanto às condições para o desenvolvimento dos fungos em geral, depois que os esporos tenham sido dispersos, a proliferação dos fungos depende de sua interação com as variáveis físico-químicas do meio ambiente (oxigênio, umidade, temperatura, atividade de água, pH...). A maioria é aeróbia, com temperatura ótima para seu desenvolvimento entre 20 e 30°C, umidade acima de 70%; quanto à atividade de água, estes se adaptam a valores baixos¹.

Os produtos curados por nitrato requerem a existência de uma determinada microbiota nitrato redutora. Os micro-organismos nitrato redutores mais importantes nos produtos cárneos são os micrococos. Igualmente pertencem à microbiota do curado, ao lado dos micrococos e dos estreptococos do grupo sorológico D, os lactobacilos e algumas estreptobactérias atípicas como *Leuconostoc* e *Pediococcus*. Esses micro-organismos produzem durante a cura, ácidos a partir dos hidratos de carbono, fundamentalmente ácido láctico, melhorando desta forma, não só o efeito bactericida do nitrito, mas também criam um meio mais inóspito para o desenvolvimento de micro-organismos deteriorantes

¹ Mohos en la industria alimentícia. Disponível em: http://www.norpacific.com.br/dicas/docs/005contaminacionalimenticia_part2_spanish.pdf

do produto, em especial, dos proteolíticos. Os micro-organismos colaboram adicionalmente na formação do aroma específico mediante a liberação moderada de determinados produtos de desdobramento de proteínas (aminoácidos e peptídeos) e das gorduras (carbonilas). Os produtos cárneos maturados que se curam com sal curante de nitrito não requerem para sua elaboração a existência de microbiota nitrato redutora. Nestes produtos predominam as espécies de *Lactobacillus* e também os enterococos como *Leuconostoc* e *Pediococcus* podem existir em grande número. Quanto mais se diminui a atividade de água como conseqüência do armazenamento prolongado, mais se reduz também o número total de micro-organismos, em cujo caso desaparecem em primeiro lugar os estreptococos, em especial o *S. faecium*, e lactobacilos, e assim ao final podem encontrar-se micrococos e algumas leveduras tolerantes ao sal (PRANDL; FISCHER; SCHMIDHORFER; SINELL, 1994).

Nos embutidos crus, a microbiota lactobacilar predominante se compõe principalmente das chamadas estreptobactérias atípicas, características dos produtos cárneos crus, curados. Trata-se de micro-organismos heterofermentativos, preferentemente formadores de ácido láctico, que se destacam pelo seu marcado psicrotrofismo. Em adição a enterococos, micrococos, *Leuconostoc* e, sobretudo, *Pediococcus*, se encarregam de desdobrar as reservas de hidratos de carbono dos músculos e também dos aditivos, com o que geral a desejada acidificação característica. Também participam deste processo as leveduras, com especial freqüência a *Debaryomyces kloeckeri*. No entanto, os ácidos só contribuem em escassa proporção com a produção do aroma peculiar de embutidos crus. Contudo, resulta mais importante a formação de carbonilas, originadas como conseqüência de processos lipolíticos (PRANDL; FISCHER; SCHMIDHORFER; SINELL, 1994).

O recobrimento das peças de embutidos fermentados por fungos é fato normal. Isto ocorre durante a maturação e desidratação com a formação de pequenas colônias que, com o passar do tempo, cobrem integralmente o embutido. Esses fungos pertencem ao gênero *Penicillium* e *Aspergillus* com colorações que vão do branco ao verde e verde azulado e desempenham importante papel na qualidade do embutido cárneo (TERRA, 1998).

No começo do processo de fermentação do salame, leveduras são dominantes na superfície, mas depois de algumas poucas semanas, os fungos estão presentes, com predominância do *Penicillium nalgiovense*, aparente em cores que vão do azul ao verde (ANDERSON, 1995 apud FILTENBORG; FRISVAD; THRANE, 1996).

Durante o processo de maturação do salame, a proliferação de fungos e leveduras é conseqüência, sendo os mais comuns os gêneros *Penicillium* e *Aspergillus*. Espécies de *Penicillium* são, por exemplo, responsáveis por sabor e aroma altamente agradáveis em queijos, tais como Danish Blue, Roquefort, Camembert, Brie e Gorgonzola. Adicionalmente, alguns fungos são usados na produção de vários tipos de embutidos e na produção de molhos de soja e temperos vindos do trigo e da soja (ALEXOPOULOS; MIMs; BLACKWELL, 1996).
Ordem: Saccharomycetales (Leveduras *Ascomycetos*).

Neste segmento estão as leveduras, comumente presentes na fase de cura dos salames. Leveduras ocorrem sobre superfícies expostas. Por causa de sua habilidade em resistir ao estresse osmótico, elas também podem crescer em salmouras que são usadas para preservar alimentos (ALEXOPOULOS; MIMs; BLACKWELL, 1996).

As estruturas somáticas dos membros da Ordem *Saccharomycetales* são mais variadas do que são normalmente reconhecidas. Exceto o zigoto, algumas espécies são unicelulares a haplóides durante seu ciclo de vida. Outras podem ter um ciclo de vida com fases haplóides e diplóides; partenogênica ou forma assexual podem restar haplóides, diplóides ou aneuplóide em seu número de cromossomos. Algumas leveduras produzem um número de brotos em sucessão que resta ligar-se por um período de tempo, formando um pseudomicélio (ALEXOPOULOS; MIMs; BLACKWELL, 1996).

Muitas leveduras reproduzem-se sexuada e assexuadamente; no entanto, para alguns o brotamento assexual é o único método de reprodução. Uma destas é o importante patógeno animal, *Candida albicans*. Poucas espécies na Ordem produzem conídias tão bem (ALEXOPOULOS; MIMs; BLACKWELL, 1996).

Família: Saccharomycetaceae

Gêneros: Debaryomyces, Candida albicans

Debaryomyces: nem todos fermentam glicose. Ascósporos do grupo têm aspecto enverrugado, exceto algumas espécies, que possuem formato em cadeia de esporos, como montanhas (ALEXOPOULOS; MIMS; BLACKWELL, 1996).

Candida albicans: esta levedura pertence ao *Phylum Ascomycota*, *Classe Deuteromycetes* (assexuais), *Ordem Saccharomycetales*.

As leveduras também contribuem no sabor e aroma, quando parte de culturas iniciadoras e neste aspecto, as pesquisas mais recentes demonstraram que o *Debaromyces hansenii* foi o mais efetivo na formação das características de sabor e aroma e na estabilidade da cor (GARDINI; SUZZI; LOMBARDI; GALGANO; CRUDELE; ANDRIGHETTO; SCHIRONE; TOFALO, 2001).

Sobre os compostos voláteis de amostras de salames comerciais, foram identificados entre 93 e 123 compostos voláteis nas amostras, compostos de diferentes origens, mas nenhuma relacionada aos fungos e leveduras da superfície dos salames (MEYNIER; NOVELLI; CHIZZOLINI; ZANARDI; GANDEMER, 1998).

O recobrimento pelos fungos auxilia no controle da incidência de luz sobre o embutido e entrada de oxigênio, preservando-o da rancificação. Contudo, se em excesso, poderá conduzir a problemas de aroma e sabor causados pela ação exacerbada de suas enzimas proteolíticas e lipolíticas. Importante salientar que altas temperaturas acompanhadas de altas umidades relativas, complementadas de baixa taxa de agitação do ar ambiental, facilitam o desenvolvimento de fungos. Quando a umidade relativa da câmara climatizada for igual a 80%, inicia-se o aparecimento de fungos de coloração branca apreciados pelo importante papel na qualificação do embutido fermentado. Estas ações, altamente positivas, são devidas, não somente ao efeito regulador da penetração da luz e do oxigênio no interior da peça cárnea, como também pela ação de suas proteases e lípases, gerando aminoácidos e ácidos graxos de elevada importância no sabor e aroma do produto cárneo (TERRA, 1998).

Contudo, é preciso considerar que à medida que, por descontrole, a umidade relativa da câmara, atinja valores superiores a 80%, o fungo esbranquiçado (útil) cede lugar a fungos de diferentes cores como verde, azul, amarelo e preto (*Mucor*). Os dois iniciais são preocupantes, porém os amarelos e pretos são totalmente indesejáveis, inclusive o último determina o aparecimento

de orifícios na tripa. O fungo amarelo forma uma verdadeira película coriácea ao redor do embutido, impedindo a desidratação e, com isso, retardando a fabricação do produto fermentado (TERRA, 1998). Por conta de práticas inadequadas de sanitização do ambiente ou por descontrole dos parâmetros de umidade e temperatura, os fungos indesejáveis se apresentam e com eles, os efeitos deletérios sobre os salames. Ocasionalmente, outros gêneros como o *Mucor* podem surgir, são indesejáveis e causam danos à tripa. Outros fungos podem formar uma película em torno do embutido impedindo a desidratação e retardando a fabricação do produto o mesmo ocorrendo quando em pré-cura, leveduras em profusão, pelo mesmo processo, prejudicam o desenvolvimento uniforme da cor e cura (TERRA, 1998).

Somente durante a etapa de pré-cura, que corresponde à fermentação, leveduras foram isoladas o que pode indicar que as leveduras foram inibidas pela redução de atividade de água, sendo que nenhuma cepa apareceu durante o estágio de maturação (OSEI; LAING; HUGO; VILJOEN, 2000).

1.7 AEROMICOLOGIA

A contaminação pela microbiota ambiental pode ocorrer em qualquer momento, em qualquer local dentro da indústria. Investigar a microbiota ambiental pode indicar aspectos higiênicos, sanitários e estruturais que também interagem com os resultados de fungos e leveduras na superfície dos produtos. A proporção de partículas viáveis numa contagem representa a biocontaminação do ar. A concentração de micro-organismos no ar respirado pelas pessoas em um ambiente da casa se compõe essencialmente de fungos; isto normalmente está entre 200 e 1000 micro-organismos/m³ de ar. Para uma unidade de fabricação ou embalagem de produtos alimentícios é muito difícil ser preciso sobre o significado destes níveis de contaminação ou seus limites¹.

A Tabela 5 mostra o nível de contaminação do ar, nas condições de amostragem de 180 litros/minuto, durante 20 segundos.

¹ Contaminación fúngica de aire. Disponível em:
http://www.norpacific.com.br/dicas/docs/018control_aire_spanish.pdf

Tabela 5: Níveis médios de contaminação do ar

Nível de Contaminação do Ar	Nº Fungos/m³	Nº Colônias observadas em placa de Petri de 55 mm (%)
Contaminação importante	Mais de 150m ³	Mais de 10
Contaminação média	De 30 a 150m ³	2 a 10
Contaminação baixa	Menos de 30 m ³	Menos de 2

Fonte: Contaminación Fúngica del Aire.

As condições climáticas também influenciam o processo de reprodução dos fungos. O número de esporos no ar é usualmente diferente dependendo do padrão de chuvas. O número de conídias diminui dramaticamente logo após a chuva, enquanto ascospores aumentam. Hora do dia, temperatura e local de coleta são outras variáveis que podem apresentar efeitos sobre o incremento de esporos. O mais comum agente de dispersão de diásporas de *Ascomycetos* e *Basidiomycetes* é provavelmente o ar. Assim, conídias são os mais numerosos, e o ar que nós respiramos raramente está livre deles. A coleta de esporos na superfície depende da velocidade terminal, uma função da circunferência da sala de origem do esporo (ALEXOPOULOS; MIMs; BLACKWELL, 1996).

Vários tipos de equipamentos permitem coletar o ar do ambiente e avaliar a biocontaminação. Os sistemas mais difundidos são diferenciados pelo meio de cultivo: um deles usa meios específicos (ágar strip type) e o outro utiliza tamanhos standards de placas de Petri (90 mm, 55 mm ou 140 mm de diâmetro). Este segundo sistema é de maior interesse já que permite ao usuário optar pelo meio de cultivo e permite o uso de placas compartilhadas que contém 2 ou 3 meios diferentes. O uso destes sistemas permite avaliar os níveis de contaminação do ar e em particular, eles permitem ao usuário industrial monitorar a tendência de contaminação aérea local por local, e para determinar a frequência e natureza do tratamento para ser levado a cabo com precisão. Eles também são utilizados para verificar a efetividade do funcionamento dos desinfetantes aéreos¹.

A velocidade do ar e o meio onde será cultivada a amostra influenciam no resultado da medição. Esporos com maior velocidade terminal são mais facilmente coletados e em uma amostra em placa de Petri predominará grandes

¹ Contaminación fúngica de aire. Disponível em:
http://www.norpacific.com.br/dicas/docs/018control_aire_spanish.pdf

esporos. Também, na observação de colônias desenvolvidas em placas de Petri, as culturas realizadas serão dependentes da composição do meio usado. Em muitos casos isolados com baixo crescimento podem não resistir aos isolados de rápido crescimento de micélios ou podem crescer em demasia e indistintamente. Esporos que não são viáveis ou não germinaram na cultura serão perdidas completamente se somente micélios são observados. No entanto, culturas permitem identificações específicas que usualmente não podem ser feitas com esporos apenas (ALEXOPOULOS; MIMs; BLACKWELL, 1996).

1.8 FUNGOS TÓXICOS

A proliferação de fungos indesejáveis pode desencadear situações de risco à saúde humana, como no caso da proliferação de fungos tóxicos. A faculdade de gerar toxinas não existe em todas as cepas de uma mesma espécie, mas bem se trata de uma característica típica da cepa. Desta forma, não se pode afirmar que seja tóxica uma determinada espécie de fungo. Por outro lado, não se pode dizer que outras espécies sejam em geral, inofensivas. Dada a extraordinária difusão dos fungos tóxicos, devem considerar-se todos e cada um pelo menos suspeitos de poder alterar a saúde do consumidor. Ao redor de 70% dos isolados de *A. flavus* e 90% dos *A. parasiticum*, formavam aflatoxina (PRANDL; FISCHER; SCHMIDHORFER; SINELL, 1994).

Aflatoxinas estão sendo identificadas como causa de câncer em todas as espécies de animais testados e estão entre os mais potenciais compostos carcinogênicos já identificados (AMES et al., 1987 apud ALEXOPOULOS; MIMs; BLACKWELL, 1996).

É consenso atualmente encontrar a indicação de que aflatoxinas também causam câncer no fígado em humanos e atualmente estes compostos são as únicas micotoxinas reguladas em alimentos nos Estados Unidos (ALEXOPOULOS; MIMs; BLACKWELL, 1996).

As ocratoxinas estão envolvidas em um tipo de atrofia renal humana endêmica em famílias na Bulgária, Romênia e a antiga Iugoslávia (MANTHE; MCHUGH, 1993 apud ALEXOPOULOS; MIMs; BLACKWELL, 1996).

Em produtos cárnicos inoculados experimentalmente, evidenciou-se a formação de aflatoxina, citreoviridina, citrinina, ácido ciclopiazónico, ocratoxinas, patulina, rugolisina e esterigmatocistina. Em produtos cárneos curados e embutidos crus fermentados não se pode evidenciar a formação de aflatoxina abaixo de 15°C. Os fungos que geram patulina e ácido penicílico não produzem estas toxinas na carne, nem a 5, nem a 12 ou 25°C, o que se relaciona com a elevada taxa de proteína e a baixa proporção de hidratos de carbono. É possível que estas toxinas reajam com aminoácidos e compostos que contenham grupos sulfidrilas, formando corpos de toxicidade muito inferior. Recomenda-se utilizar cepas de fungos de conhecida linhagem específica, que tenham se manifestado inócuas e não produtoras de toxinas (PRANDL; FISCHER; SCHMIDHORFER; SINELL, 1994).

A defumação é citada como tendo efeito sobre o controle de fungos (PRANDL; FISCHER; SCHMIDHORFER; SINELL, 1994).

São fungos associados a perdas em embutidos fermentados: *Penicillium nalgiovense*, *P. olsonii*, *P. chrysogenum*, *P. verrucosum*, *P. spathulatum*, *P. solitum*, *P. oxalicum*, *P. commune*, *P. camemberti*, *P. expansum*, *P. miczynskii*, *P. simplicissimum* (FILTENBORG; FRISVAD; THRANE, 1996).

No caso do *Penicillium expansum*, sabe-se que é muito comum na indústria cárnica e é um fungo verde que se propaga pelo ar em forma de esporo. Este desenvolvimento indesejável compete com a microbiota desejada (*Penicillium nalgiovense*) e interfere em seu crescimento. Também causa uma aparência anormal para o consumidor. Em alguns casos pode secretar uma micotoxina (clavacina ou patulina) podendo causar graves intoxicações ao consumidor¹.

1.9 ALTERAÇÃO EM SALAMES

Bactérias e leveduras são os micro-organismos mais importantes sob o ponto de vista econômico e do consumo do produto, se comparado àquelas transformações causadas por fungos. Porém, as alterações em embutidos não provém apenas de razões de ordem microbiológica. A matéria-prima, as

¹ Tratamiento del aire em la industria cárnica. Disponível em: <http://www.norpacific.com.br/dicas/docs/222.pdf>

condições de manufatura, maturação, armazenamento são alguns dos principais aspectos a influenciar na ocorrência de alterações micro-orgânicas em embutidos. A maturação e secagem de salames são técnicas efetivas no controle de patógenos, no entanto, há evidências de que a matéria prima continua sendo a maior fonte de contaminação bacteriana, a sanitização frequente e os procedimentos de higienização podem prevenir a entrada de patógenos na linha de produção, como *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* (BARBUTTI; PAROLARI, 2002).

A produção de salames envolve a possibilidade da influência de diversos fatores que podem favorecer as alterações em embutidos (EVANGELISTA, 1998):

a) Fatores ligados à matéria-prima:

Falta de análise das condições da carne; condições anti-higiênicas da carne e da massa; número e atividade dos micro-organismos; emprego de carnes aquosas ou edemaciadas; emprego de carnes com superfície viscosa; adição de tendões e retalhos cárneos, guardados durante muito tempo e de forma inadequada; carnes congeladas em câmaras frigoríficas com elevada umidade ou deficiente circulação de ar (microbiota psicrófila); adição de toucinho alterado; adição de condimentos contaminados.

b) Fatores ligados ao processo de elaboração:

Condições inadequadas durante maturação, defumação e dessecação do produto; teor de umidade do meio; maturação conjunta dos embutidos (mesma câmara, sem considerar o tipo de materiais estocados); uso de utensílios e componentes contaminados; maturação rápida (mais propensa a alterações que na forma lenta); qualidade dos ingredientes usados no preparo, cura e maturação.

c) Fatores ligados ao armazenamento:

Armazenamento em condições inadequadas ao produto.

Alterações microbiológicas em salames são em geral originadas por fungos, leveduras ou bactérias isoladamente ou associando-se entre si. O crescimento dos fungos se dá na superfície dos embutidos, apresentando no começo, pontos arredondados que são pequenas colônias, que vão se alastrando e formando camadas de revestimento coloridas, conforme o micro-organismo responsável. Entre esses fungos atuantes estão espécies dos gêneros *Aspergillus*

(*A. glaucus, cilium*) e *Mucor*. Mais raramente, os gêneros *Cladosporium*, *Geotrichum*, *Candida*, *Scopulariopsis*, *Trichotecium*, entre outros. Os fungos se desenvolvem sobre a superfície das tripas, tanto naturais quanto artificiais (fibras de celulose) e nestas podem digerir a película, podendo romper o envoltório (EVANGELISTA, 1998).

Quando o comprometimento do produto pelos fungos é pequeno, pode ser consumido, mas quando é intensa a proliferação, pode tornar-se impróprio pelo consumo, com distorção severa do sabor e aroma. Geralmente as leveduras atuam na parte externa do produto, mas podem localizar-se entre a última camada do envoltório e a superfície da massa do produto. Os fatores que mais influenciam a proliferação de fungos são a umidade ambiental próxima ao grau de saturação, temperatura (20 a 25°C) e o armazenamento defeituoso. Dentre as alterações bacterianas, se distingue a que provoca revestimento úmido, viscoso, de cor esbranquiçada para cinza ou cinzenta amarelada. As alterações mais comuns em embutidos são o limo, azedamento e esverdeamento.

Formação de limo: Inicia-se com pontos sobre a superfície da tripa, que se alastram e recobrem a mesma, tornando-se a peça pegajosa. O limo pode ser removido com água quente e não torna o produto impróprio para o consumo. Os micro-organismos causadores destas alterações estão leveduras e espécies do Gênero *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* e com frequência, *Mycobacterium thermophactum*. Os micro-organismos acidógenos são causadores de viscosidade na superfície externa das tripas. O *Lactobacillus viridescens*, além do limo, pode também produzir o esverdeamento dos embutidos.

Azedamento: Na maioria das vezes, ocorre entre a parte interna da tripa e o conteúdo do embutido. É provocada por lactobacilos, estreptococos e outros micro-organismos que atuam sobre a fração glicídica do embutido, formando a acidez e neste aspecto, o tipo e quantidade de açúcar interferem neste processo. O uso de altas temperaturas na maturação rápida faz acelerar a proliferação de micro-organismos acidificantes e daí o surgimento de ácidos de odor e sabor desagradáveis. O meio de introdução muito comum de micro-organismos deteriorantes e que não são peculiares no embutido são os condimentos, entre outras substâncias adicionadas.

Esverdeamento: O produto é impróprio para o consumo, não pela nocividade, mas pela inadequada qualidade organoléptica. A produção da cor verde se deve à ação do peróxido, produzido por bactérias heterofermentativas, dos gêneros *Lactobacillus* e *Leuconostoc* e bactérias catalase negativas, sobre os pigmentos da carne. A alteração da cor no embutido aparece após 12 a 30 horas da elaboração, em produtos de menor porte e naquelas de maior porte, depois de 4 dias de elaborado (EVANGELISTA, 1998).

Embutidos fermentados secos e semissecos são considerados geralmente como estáveis e seguros e raramente estão envolvidos em intoxicações alimentares, especialmente porque na maturação e secagem, patógenos são inibidos, combinando a redução de atividade de água, com a queda do pH (BARBUTI; PAROLARI, 2002).

Além destas alterações, pode ser mencionada a formação de gases, que procedem de bactérias redutoras de nitratos e de processos fermentativos provocados por bactérias lácticas heterofermentativas; os processos putrefativos, nos quais os odores fortes e desagradáveis são relativos à classe de microorganismos presentes: Gênero *Proteus*, micrococos e estreptococos proteolíticos, bactérias coliformes e também determinadas bactérias lácticas. A alteração putrefativa pode ser interna, superficial e geral. Concorre para o aumento o risco de alterações em embutidos os aspectos: refrigeração inadequada de matéria-prima (carne e toucinho), a utilização de carne úmida, facas contaminadas, tripas contaminadas, uso de carne insuficientemente maturada ou acidificada e o aproveitamento de animais em condições de mau estado físico (EVANGELISTA, 1998).

Embora sendo os embutidos fermentados secos considerados como alimento seguro, em geral, é recomendável registrar parâmetros que devem servir como apoio no controle preventivo a alterações nos embutidos, perdas econômicas e, sobretudo, na preservação da segurança alimentar. No Anexo I estão demonstradas tabelas sobre os parâmetros que interferem ativamente na microbiologia dos alimentos e que precisam ser consideradas para a qualidade do produto e segurança alimentar.

1.10 NATAMICINA

A natamicina é um antibiótico macrolídeo poliênico, antifúngico, produzido pela ação de enzimas *Polyketide Synthase* (PKSs) do *Streptomyces natalensis* ATCC 27448, num processo similar com a biosíntese de ácidos graxos e que é amplamente usado na indústria de alimentos para prevenir a contaminação de fungos. Polienos são estruturas planas de anéis macrolídeos que interagem com esteróis com alta afinidade, e são, portanto ativos contra fungos, mas não bactérias (MENDES; RECIO; FOUQUES; LUITEN; MARTÍN; APARICIO, 2001).

De acordo com Mendes, Guerra, Martín, Aparício (2005), a natamicina é um antibiótico de uso também na medicina humana atualmente. O micro-organismo chamado *Streptomyces natalensis* produz pimaricina, um antifúngico tetraeno que se utiliza amplamente no tratamento de queratites fúngicas, assim como na indústria alimentícia a fim de evitar a contaminação por fungos de queijos e outros alimentos não estéreis.

Os polienos são um grande grupo de antibióticos com várias estruturas moleculares que interagem com membranas fúngicas, sendo que mais de 200 polienos são produzidos pelo *Streptomyces* spp (MATTIA; CERNIGLIA; BAINES, (s.d.)).

Estruturalmente, macrolídeos poliênicos são caracterizados pelo macrociclo hidrolisado contendo um açúcar (amino), mas sua característica distinta é a presença de um cromóforo formado por um sistema conjugado de 3 a 7 duplas ligações no anel macrolactona (MENDES; RECIO; FOUQUES; LUITEN; MARTÍN; APARICIO, 2001).

Já em 2001, a literatura dava conta de que o sequenciamento do grupo de genes relacionados à natamicina revelou a presença do gene *pimD*; ele está relacionado a habilidade de sintetizar uma nova pimaricina derivada, 4,5-deepoxypimaricin (MENDES; RECIO; FOUQUES; LUITEN; MARTÍN; APARICIO, 2001).

O sequenciamento do extremo esquerdo da agrupação dos genes responsáveis pela biosíntese de pimaricina permitiu a identificação de um gen de 915 nucleotídeos, *pimM*, situado acima do *pimR*, o regulador positivo da biosíntese de pimaricina (MENDES; GUERRA; MARTÍN; APARICIO, 2005).

A agrupação genética responsável pela biosíntese de pimáricina em *S. natalensis* contém um gene que codifica uma colesterol oxidase (*pimE*) situado no centro do 'cluster', entre outros genes implicados na produção de pimáricina. Ao provocar uma mutação em *pimE*, houve perda completa da capacidade de produção de pimáricina, o que sugere que *pimE* também está envolvido na biosíntese do antifúngico (MENDES; GUERRA; MARTÍN; APARICIO, 2005).

No que diz respeito ao mecanismo de ação da natamicina, ele é um antibiótico polieno, faz distender a parede celular pela ligação com esteróis da membrana citoplasmática (MATTIA; CERNIGLIA; BAINES, (sd)). Isso leva a uma alteração da estrutura da membrana que conduz a uma perda de material celular (MENDES; RECIO; FOUQUES; LUITEN; MARTÍN; APARICIO, 2001).

Mais especificamente, o mecanismo de ação da natamicina é de ruptura do ergosterol da membrana fúngica, com perda do conteúdo (THOMAS; INGRAM; BEVIS; BRIGHTWELL; WILSON; DELVES-BROUGHTON, 2005). De maneira bastante clara, sabe-se que a atividade antifúngica da natamicina depende da sua ligação com esteróis da membrana celular, especialmente o ergosterol, que é o principal esteroide de membranas fúngicas. Os polienos formam complexos com esteróis e assim interrompem a função da membrana. Perda de íons potássio é o primeiro evento detectável, e em altas concentrações, perda de aminoácidos e outros metabólitos (MATTIA; CERNIGLIA; BAINES, (s.d.)).

O uso de substâncias antibióticas, especialmente quando de uso corrente na medicina humana, traz à tona a atenção ao processo de desenvolvimento de resistência dos micro-organismos à substância e por este motivo, tem provocado rejeição de uso na indústria alimentícia. Neste sentido, é importante considerar que a sensibilidade à natamicina, de bolores e leveduras isoladas de fábricas de embutidos secos onde a natamicina tenha sido usada por muitos anos foi comparada com os isolados de fábricas onde natamicina nunca tenha sido aplicada. Não foram encontradas diferenças significativas (DE BOER et. al., 1979 apud MATTIA; CERNIGLIA; BAINES, (s.d.)).

Estudos de resistência cruzada com outros antimicrobianos, a natamicina não apresentou resistência cruzada com nistatina, filipina, endomicina e candidina, como apresentou a anfotericina B (STOUT; PAGANO, 1956; LITTMAN

et al., 1958; BODENHOFF, 1968; WALTER; HEILMEYER, 1969 apud MATTIA; CERNIGLIA; BAINES, (s.d.)).

Fungos não desenvolvem resistência natural à natamicina por causa de seu modo de ação (KHOUDOKORMORFF, 1984 apud THOMAS; INGRAM; BEVIS; BRIGHTWELL; WILSON; DELVES-BROUGHTON, 2005). Essa afirmação foi suportada por dados que deram conta de que, em estabelecimentos onde a natamicina vinha sendo usada há 9 anos, nenhuma mudança na composição da microbiota contaminante ocorreu (DE BOER, 1977 apud THOMAS; INGRAM; BEVIS; BRIGHTWELL; WILSON; DELVES-BROUGHTON, 2005).

Igualmente oportuno é atermo-nos aos resíduos gerados no metabolismo da substância. A natamicina possui um dossiê completo de dados toxicológicos e uma extensa história de uso seguro em alimentos. A degradação da natamicina leva a formação de micosamina, aponatamicina e di-natamyinoldediol, compostos que não têm atividade antimicrobiana e nenhum problema de segurança conhecido (BRIK, 1981; LEVINSKAS et al., 1966 apud THOMAS; INGRAM; BEVIS; BRIGHTWELL; WILSON; DELVES-BROUGHTON, 2005).

No que se refere à toxicidade no consumo via oral da natamicina, demonstrações de que possui toxicidade oral muito baixa levou-a a obter aprovação para o uso, por parte da Organização Mundial da Saúde. Quanto à possibilidade de reações alérgicas, em 73 trabalhadores envolvidos por 5 anos, média, na produção de natamicina, nenhuma reação alérgica foi encontrada (GRUYPER, 1961; GRUYPER, 1964 apud MATTIA; CERNIGLIA; BAINES, (s.d.)).

Em 2002 a Organização Mundial da Saúde (OMS) reavaliou a natamicina sobre o aspecto de resistência, enquanto antibiótico. Os resultados de toxicidade e segurança da natamicina e seus produtos de degradação (incluindo novos dados não anteriormente avaliados) e a conclusão alcançada foi muito positiva (THOMAS; INGRAM; BEVIS; BRIGHTWELL; WILSON; DELVES-BROUGHTON, 2005).

Em face aos resultados de tais apontamentos científicos, a natamicina como conservante de alimentos está aprovada em quase todo o mundo, principalmente para tratamento de superfície de queijo e embutidos secos (THOMAS; INGRAM; BEVIS; BRIGHTWELL; WILSON; DELVES-BROUGHTON, 2005).

O uso do antibiótico natamicina é indicado na proteção externa de alguns alimentos, contra o fungo. Seu uso não está autorizado na Comunidade Européia, mas está aprovado na Espanha, de uma forma transitória. Também está autorizado o uso nos Estados Unidos e outros países. Na Espanha é utilizado na superfície de queijos, chorizo, salames e presuntos curados (MIGLIANELLI, 2005).

Na África do Sul, o uso da natamicina teve sua autorização ampliada, incluindo o uso no vinho, bebidas alcoólicas de frutas e licores até um máximo de 30 mg/l. Foi demonstrado que a natamicina é efetiva em mais baixas concentrações que as requeridas por conservantes de vinho como o sorbato e o benzoato (THOMAS; INGRAM; BEVIS; BRIGHTWELL; WILSON; DELVES-BROUGHTON, 2005).

Nos Estados Unidos, a natamicina é reconhecida como segura, possuindo status de GRAS e é permitida em queijos; mais recentemente teve seu uso estendido para iogurte, queijo cottage, tempero de saladas e outros (Food and Drug Administration, 2003 a. 21CFR170.30; Food and Drug Administration, 2003 b. 21CFR172.55 apud THOMAS; INGRAM; BEVIS; BRIGHTWELL; WILSON; DELVES-BROUGHTON, 2005).

No Brasil, os limites de uso devem ser conforme: “Art. 1º - Aprovar a extensão de uso de uso da Natamicina (Pimaricina) (INS 235), como conservador, para tratamento de superfícies de produtos cárneos embutidos no limite máximo de 1mg/dm², ausente em 5 mm de profundidade” (BRASIL, 2001).

Como produto para controle de fungos e leveduras no processo de cura e fermentação de salames, é necessário saber que a natamicina não afeta os esporos do ar e superfícies¹.

A natamicina pode ser usada em contato direto por imersão do envoltório em solução concentrada e/ou por contato direto na forma de aspersão. A efetividade deste processo está ligada ao tamanho das gotas (neste caso devem ter menos de 1 micron). Poucos dispositivos permitem ter este tamanho de gota no momento da emissão².

¹ Tratamiento del aire em la industria cárnica. Disponível em: <http://www.norpacific.com.br/dicas/docs/222.pdf>

² Contaminación fúngica de aire. Disponível em: http://www.norpacific.com.br/dicas/docs/018control_aire_spanish.pdf

1.11 PHPS

O *Fumispore Shock* é um produto à base de PHPS e é utilizado para descontaminação fungicida do ar e das superfícies, longe da presença humana. Para exercer sua ação fungicida, deve ser disperso no meio ambiente em forma de fumaça. O processo de fumigação envolve quatro etapas: a difusão, o contato, a destruição e finalmente, a sedimentação. No início, por energia térmica, ocorre a combustão da mistura oxidorrredutora. Em seguida, por energia química, há a propagação da auto combustão exotérmica completa e ao final, por energia cinética, emissão de fumaça com a sublimação do ingrediente ativo¹.

A combustão lenta do produto desprende monóxido de carbono (CO) e por isso deve ser usado fora da presença humana e animal. Os resíduos da fumigação depositados depois da utilização não deixam nenhuma toxicidade aguda: DL₅₀ pela via oral no trato superior ou igual a 5.000 mg.kg⁻¹. Recentes estudos toxicológicos mostram que a utilização do Fumispore na fumigação em dose de três gramas por metro cúbico (3g/m³) não apresenta nenhum risco de toxicidade².

Como resultado, a aplicação da PHPS por fumigação apresenta grande poder de dispersão da fumaça em todas as áreas, incluindo as mais inacessíveis, eliminação da microbiota indesejável, somente e eficaz desinfecção do local e diminuição da velocidade de recontaminação³.

Aerossóis secos, em forma de fumaça, difundem um elevado número de partículas carregadas com material ativo em todo o volume do local a tratar. O ingrediente ativo fungicida (PHPS) é dispersado e levado por partículas muito finas de fumaça (0,5 a 2 micra)⁴. Este fator é um elemento facilitador do uso do produto, considerando-se o alcance que permite dar à substância no ambiente e no produto. O princípio ativo foi desenvolvido primeiramente para a aplicação

¹ Por que recorrer a um procedimento de desinfecção via aérea? Disponível em: http://www.norpacific.com.br/dicas/docs/003_2.pdf.

² Dados toxicológicos. Disponível em: http://www.norpacific.com.br/dicas/docs/006dados_toxicologicos_fumispore_portugues.pdf

³ Tratamiento del aire em la industria cárnica. Disponível em: <http://www.norpacific.com.br/dicas/docs/222.pdf>

⁴ Contaminación fúngica de aire. Disponível em: http://www.norpacific.com.br/dicas/docs/018control_aire_spanish.pdf

farmacêutica: Parahydroxyphenylsalicylamida (PHPS); denominação "I S O": Osalmida; grupo químico: Driol¹.

O princípio ativo PHPS age quimicamente por meio do bloqueio dos espaços membranários dos intercâmbios entre as células e tem seu espectro biocida sobre as leveduras e os fungos, conferindo ausência de imunidade dos micro-organismos por ação de múltiplos espaços. O efeito químico promove a destruição microbiana no ar e sobre as superfícies e o efeito físico, o saneamento do ar por sedimentação das partículas no ar².

1.11.1 Composição

A descrição da composição considera os aspectos de toxicidade do produto.

Está presente o nitrato de amônio ($\text{NH}_4 \text{NO}_3$ – 52,8%), que é uma substância pouco tóxica, utilizada em terapêutica, na dissolução dos cristais de urina. Sua decomposição não apresenta nenhum perigo e deixa resultar nos seguintes produtos: protóxido de nitrogênio (N_2O), água, nitrogênio e oxigênio.

Também compõe a dicíandiamida ($\text{C}_2\text{H}_4\text{N}_4$ – 35,2%), que é um produto pouco irritante e pouco tóxico pela via oral. Conhecido há muito tempo por sua utilização como adubo nitrogenado (tanto como $\text{NH}_4 \text{NO}_3$).

Além daqueles, faz parte o tixosil ($10\text{SiO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ – 7,0%), que é um produto inerte, à base de sílica amorfa e que não apresenta toxicidade conhecida. Está autorizado em alimentação humana e animal como agente antiumectante.

Finalmente, a hidroxifenilsalicilamida ($\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{O}_3\text{N}$ – 5%), que é utilizada há muito tempo como parte de especialidade médica pelo seu efeito colérico. Numerosos estudos sobre tal utilização demonstram o caráter não tóxico do produto para o homem e animal.

Esta matéria-prima original, a hidroxifenilsalicilamida apresenta uma eficácia muito boa sobre os esporos e as micelas na maior parte dos fungos encontrados nas indústrias agroalimentares. Isso confere ao *Fumispore Shock*

¹ Fumispore. Disponível em:
http://www.norpacific.com.br/dicas/docs/104apreseo_fumispore_shock2_port.pdf

² Fumispore. Disponível em:
http://www.norpacific.com.br/dicas/docs/104apreseo_fumispore_shock2_port.pdf

(usado a 3 g/m³) seu papel fungicida tanto no tratamento do ambiente quanto no da superfície¹.

A PHPS é 99% eficiente contra o gênero *Penicillium* e diversas de suas espécies (*candium*, *chrysogenum*, *cyclopium*, *expansum*, *italicum*, *nalgiovensis*); é também atuante contra o gênero *Mucor* (espécies *hiemalis*, *mucedo*, *aphaerosporus*, *racemosus*); atua igualmente sobre o gênero *Aspergillus* e algumas de suas espécies como: *flavus*, *fumigatus*, *glaucus*, *niger*, *parasiticus*, *versicolor*.

Na abrangência da ação da PHPS estão outros fungos: *Phoma*, *Doratomyces spp*, *Scopulariopsis fusca*, *Ulocladium chartarum*, *Wallemia aebi*, *Fusarium solani*, *Colletotrichum musae*, *Alternaria consortialis*, *Exophiala jeanselmée*, *Absidia corymbifera*, *Trichotecium roseum*, *Cladosporium clasporoides*, *Rhizopus cryzae*, *Rhizopus nigricans*, *Botrytis cinerea*, *Trichoderma viride*, *Acremonium strictum*; possui ação também sobre as Leveduras, entre elas, *Debaryomyces hansenii*, *Candida albicans*, *Rhodotorula rubra*, *Saccharomyces cerevisiae*².

Com efeito, este tipo de tratamento dará um melhor resultado se for incluído dentro de um plano de medidas preventivas que, se respeitado por todos, significará oferecer ao consumidor um produto alimentício de muito boa qualidade higiênico-sanitária³.

¹ Dados toxicológicos. Disponível em:
http://www.norpacific.com.br/dicas/docs/006dados_toxicologicos_fumispore_portugues.pdf

² Fumispore. Disponível em:
http://www.norpacific.com.br/dicas/docs/104apreseo_fumispore_shock2_port.pdf

³ Contaminación fúngica de aire. Disponível em:
http://www.norpacific.com.br/dicas/docs/018control_aire_spanish.pdf

2 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ALEXOPOULOS, C.J.; MIMS, C. W.; BLACKWELL, M. **Introductory Mycology**. 4ª Edition, John Wiley & Sons, Inc. EUA, 1996;

BACUS, J. N. Meat Fermentation. *Food Technology*, v.38, nº.6, p.59-63, 1984;

BANWART, G. J. **Basic Food Microbiology**. 2. Edition, Van Nostrand Reinhold, New York, 1989;

BRASIL. Instrução Normativa Nº. 22. Regulamento de Padrão de Identidade e Qualidade de Salames. 31/07/2000. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Brasília, 2000.

BRASIL. Resolução – RDC Nº. 12 de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico para Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Brasília-DF;

BRASIL. Resolução – RDC Nº. 28 de 23 de fevereiro de 2001. Aprova a extensão de uso da Natamicina (Pimaricina) (INS 235). Regulamento Técnico para Padrões. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Brasília-DF;

CASABURI, A.; BLAIOTTA, G.; MAURIELLO, G.; PEPE, O.; VILLANI, F. Technological Activities of *Staphylococcus carnosus* and *Staphylococcus simulans* Strains Isolated From Fermented Sausages. **Meat Science**, v.71, p. 643-650, 2005.

Clasificación de los mohos. Disponível em:
http://www.norpacific.com.br/dicas/docs/062_2.pdf. Acesso em: 02/01/2009;

Contaminación fúngica de aire. Disponível em:
http://www.norpacific.com.br/dicas/docs/018control_aire_spanish.pdf. Acesso em: 02/01/2009.

Dados toxicológicos. Disponível em:
http://www.norpacific.com.br/dicas/docs/006dados_toxicologicos_fumispore_portugues.pdf. Acesso em: 02/01/2009.

DURÁ, M.A.; FLORES, M.; TOLDRÁ, F. Effect of *Debaromyces spp.* on the Proteolysis of Dry-Fermented Sausages. **Meat Science**, v. 68, p. 319-328, 2004.

ERKILLA, S.; PETÄJÄ, E.; EEROLA, S.; LILLEBER, L.; MATTILA-SANDHOLM, T.; SUIHK, M-L. Flavor Profiles of Dry Sausages Fermented by Selected Novel Meat Starter Cultures. **Meat Science**, v. 58, p. 111-116, 2000.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de Alimentos**. 2ª Edição, Editora Atheneu, São Paulo - SP, 1998.

FADDA, S.; AYMERICH, T.; HUGAS, M.; GARRIGA, M. Use of a GMP/GHP HACCP Checklist to Evaluate the Hygienic Status of Traditional Dry Sausage Workshops. **International Association for Food Protection - Food Protection Trends**, v. 25, n.º.7, p. 522-530, 2005.

Fumispore. Disponível em:

http://www.norpacific.com.br/dicas/docs/104apreseo_fumispore_shock2_port.pdf

Acesso em: 02/01/2009.

GARDINI, F.; SUZZI, G.; LOMBARDI, A.; GALGANO, F.; CRUDELE, M. A.; ANDRIGHETTO, G.; SCHIRONE, M.; TOFALO, R. A survey of Yeasts in Traditional Sausages of Southern Italy. **Federation of European Microbiological Societies**, p. 161-167, 2001.

GRIS, E. F.; BORTOLUZZI, R.; SANTO, M. L. P. E.; DAMIAN, C. Produtos Fermentados. **Revista Nacional da Carne**, Edição 308, São Paulo – SP, outubro 2002.

LEROY, F.; VERLUYTEN, J.; DE VUYST, L. Functional Meat Starter Cultures for Improved Sausage Fermentation. **International Journal of Food Microbiology**, v. 106, p. 270-285, 2006.

MATTIA, A. CERNIGLIA J., BAINES, J. **Safety Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants – Natamycin (Pimaricin)**. Disponível em: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v48je06.htm>. Acesso em: 03/01/2009;

MENDES, M. V.; RECIO, E.; FOUCES, R.; LUITEN, R.; MARTÍN, J. F.; APARICIO, J. F. Engineered Biosynthesis of Novel Polyenes: A Pimaricin Derivative Produced by Targeted Gene Disruption in *Streptomyces natalensis*. **Chemistry & Biology**, v.8, p. 635-644, 2001.

MENDES, M. V.; GUERRA, S. M.; MARTÍN, J. F.; APARICIO, J. F. **Identificación de *pimM* como Regulador Positivo de la Biosynthesis de Pimaricina em *Streptomyces natalensis***. Trabalho apresentado ao XX Congresso Nacional de Microbiologia, Cáceres - MS, 2005. Disponível em: <http://milksci.unizar.es/adit/conser.html>. Acesso em: 10/03/2008.

MEYNIER, A.; NOVELLI, E.; CHIZZOLINI, R.; ZANARDI, E.; GANDEMER, G. Volatile Compounds of Commercial Milano Salami. **Meat Science**, v. 51, p. 175-183, 1998.

MIGLIANELLI, A. **Aditivos em Los Alimentos**. Disponível em: <http://www.ecologiasocialnqn.org.ar/alimentos2.htm>. Acesso em: 03/01/2009.

Mohos en la industria alimentícia. Disponível em:

http://www.norpacific.com.br/dicas/docs/005contaminacionalimenticia_part2_spanish.pdf. Acesso em: 02/01/2009;

ODA, H. I. O.; SOARES, A. L.; LARA, J. A. F.; YAMASHITA, F.; IDA, E. I.; SHIMOKOMAKI, M. Segurança e Qualidade Para os Embutidos. **Revista Nacional da Carne**, Edição 317, 2003.

ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de Alimentos: Alimentos de Origem Animal**. Vol. 2. Artmed, Porto Alegre, 2005.

OSEI, A. A.; LAING, E.; HUGO, A.; VILJOEN, B. C. The Population Change of Yeasts in Commercial Salami. **Food Microbiology**, v. 17, p. 429-438, 2000.

Por que recorrer a um procedimento de desinfecção via aérea? Disponível em: http://www.norpacific.com.br/dicas/docs/003_2.pdf. Acesso em: 02/01/2009.

PRANDL, O.; FISCHER, A.; SCHMIDHORFER, T.; SINELL, H. J. **Tecnologia y Higiene de la Carne**. Editorial Acríbia, Zaragoza (España), 1994.

TEJNER, K.; STHANKE, L. H.; ANDERSEN, L.; MARTINUSSEM, J. A Fermented Meat Model System for Studies of Microbial Aroma Formation. **Meat Science**, v.66, p. 211-218, 2003.

TERRA, N. N. **Apontamentos de Tecnologia de Carnes**. Editora Unisinos, São Leopoldo - RS, 1998.

TERRA, N. N. Particularidades na Fabricação do Salame. **Revista Nacional da Carne**, Edição 317, 2003.

THOMAS, L. V.; INGRAM, R. E.; BEVIS, H. E.; BRIGHTWELL, P.; WILSON, N.; DELVES-BROUGHTON, J. Natamycin Control of Yeast Spoilage of Wine. **International Association for Food Protection - Food Protection Trends**, v. 25, p. 510-517, 2005.

YAMADA, E. A. A Produção de Salames. **Revista Nacional da Carne**, N°. 220, Pág. 72-75, 1995.

CAPÍTULO 2: PHPS E NATAMICINA NO CONTROLE DE FUNGOS NA SUPERFÍCIE DE SALAMES TIPO MILANO

CAPÍTULO 2: PHPS E NATAMICINA NO CONTROLE DE FUNGOS NA SUPE'RFÍCIE DE SALAMES TIPO MILANO

INTRODUÇÃO

Durante o processo de maturação do salame, a proliferação de fungos e leveduras é fato comum, sendo que os gêneros *Penicillium* e *Aspergillus* são os encontrados mais facilmente. O recobrimento pelos fungos auxilia no controle da incidência de luz sobre o embutido e entrada de oxigênio, preservando-o da rancificação. Em excesso, poderá conduzir a problemas de aroma e sabor causados pela ação exacerbada de suas enzimas proteolíticas e lipolíticas (TERRA, 1998). A associação entre os aromas característicos e o recobrimento externo por fungos em salames foi estudado por Meynier, Novelli, Chizzolini, Zanardi, Gandemer (1998) que não encontraram nenhum aroma característico, dos salames estudados, relacionados aos fungos e leveduras da superfície dos mesmos. De acordo com Prandl, Fischer, Schmidhorfer, Sinell (1994), a proliferação de fungos indesejáveis pode desencadear situações de risco à saúde humana, como no caso da proliferação de fungos tóxicos. Dada a extraordinária difusão dos fungos tóxicos, deve-se considerar que todos são suspeitos de alteração à saúde do consumidor.

Com a perspectiva de produção de salames que não inclui em sua tecnologia a inoculação de fungos durante a maturação e que se destina a mercados que não requerem recobrimento superficial por fungos no produto final, torna-se necessário controlar a proliferação de fungos nativos durante o processo produtivo. A PHPS é um princípio ativo desenvolvido inicialmente para a aplicação farmacêutica, sendo denominada "Osalmida", do grupo químico "Driol". O princípio ativo PHPS age quimicamente por meio do bloqueio dos espaços membranários dos intercâmbios entre as células e tem seu espectro biocida sobre as leveduras e os fungos, conferindo ausência de imunidade dos micro-organismos por ação de múltiplos espaços. O efeito químico promove a destruição microbiana no ar e sobre as superfícies e o efeito físico, o saneamento

do ar por sedimentação das partículas no ar. A PHPS é 99% eficiente contra o gênero *Penicillium* e diversas de suas espécies (*candium*, *chrysogenum*, *cyclopium*, *expansum*, *italicum*, *nalgiovensis*); é também atuante contra o gênero *Mucor* (espécies *hiemalis*, *mucedo*, *aphaerosporus*, *racemosus*); atua igualmente sobre o gênero *Aspergillus* e algumas de suas espécies como: *flavus*, *fumigatus*, *glaucus*, *niger*, *parasiticus*, *versicolor*; possui ação também sobre as leveduras, entre elas, *Debaryomyces hansenii*, *Candida albicans*, *Rhodotorula rubra*, *Saccharomyces cerevisiae*¹. De acordo com Mendes, Recio, Fouces, Luiten, Martín, Aparício (2001) a natamicina é um antibiótico macrolídeo poliênico, antifúngico, produzido pela ação de enzimas *Polyketide Synthase* (PKSs) do *Streptomyces natalensis* ATCC 27448, num processo similar a biosíntese de ácidos graxos. É amplamente utilizado na indústria de alimentos para prevenir a contaminação de fungos. Também é um antibiótico polieno que faz distender a parede celular pela ligação com esteróis da membrana citoplasmática (MATTIA; CERNIGLIA; BAINES, (sd)). O mecanismo de ação da natamicina é de ruptura do ergosterol da membrana fúngica, com perda do conteúdo (THOMAS; INGRAM; BEVIS; BRIGHTWELL; WILSON; DELVES-BROUGHTON, 2005). O uso do antibiótico natamicina é indicado na proteção externa de alguns alimentos, contra os fungos. Seu uso não está autorizado na Comunidade Européia, mas está aprovado na Espanha, de uma forma transitória. Também está autorizado o uso nos Estados Unidos e outros países. Na Espanha, é utilizado na superfície de queijos, chorizo, salames e presuntos curados (MIGLIANELLI, 2005). Em 2002 a Organização Mundial da Saúde (OMS) reavaliou a natamicina e os resultados de toxicidade e segurança da natamicina e seus produtos de degradação e a conclusão alcançada foi muito positiva (THOMAS; INGRAM; BEVIS; BRIGHTWELL; WILSON; DELVES-BROUGHTON, 2005).

Neste contexto, o presente estudo avaliou o controle fúngico exercido pela natamicina (Autorização de Uso do Produto no Anexo II) e pela PHPS (Autorização de Uso do Produto no Anexo III) na superfície de salames tipo Milano sem reduzir o padrão de umidade relativa na maturação, obtendo um

¹ Fumispore. Disponível em:
http://www.norpacific.com.br/dicas/docs/104apreseo_fumispore_shock2_port.pdf

produto final com características diretamente relacionadas ao controle submetido na maturação lenta, com os mesmos parâmetros de processo.

1 MATERIAL E MÉTODOS

1.1 ELABORAÇÃO DO SALAME TIPO MILANO

Parte da matéria-prima (carne de origem suína e bovina) foi moída e após, junto com demais matérias-primas, picada em cutter. Observou-se temperatura entre -5 e -8°C para picar a gordura no cutter. Ao final deste processo, obteve-se uma massa com granulometria entre 3 e 6 mm. Foram adicionados os condimentos, em seguida os fosfatos e sais de cura e finalmente, a cultura iniciadora. Após o embutimento, em envoltórios de colágeno (de origem suína) com calibre 80 mm, as peças foram levadas para a câmara de pré-cura onde permaneceu por 07 dias, em fase 'A', denominação dada para a fase de secagem ou pré-cura. O método utilizado para a maturação foi maturação lenta climatizada que consistiu de 2 etapas, chamadas aqui de "fase B" e "fase C", consistindo a "fase B" de 11 a 17 dias e a "fase C", de 9 a 19 dias, havendo controle de umidade relativa e temperatura. Os tratamentos foram realizados em um lote de produção. Cada lote corresponde a uma batelada da produção diária (+/- 250 kg) de produto embutido por dia, aproximadamente. O mesmo critério foi adotado para o tratamento do lote controle.

1.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Foram realizados quatro tratamentos, sendo eles:

Tratamento 1 (T1): Utilização de natamicina com uma concentração de 0,2% na hidratação do envoltório de colágeno (imersão) em etapa anterior ao embutimento juntamente com a aplicação de PHPS na câmara de cura.

Tratamento 2 (T2): Utilização de PHPS na câmara de cura através de fumigação durante a maturação, sem uso da natamicina.

Tratamento 3 (T3): Utilização de natamicina com uma concentração de 0,2% na hidratação do envoltório de colágeno (imersão), em etapa anterior ao embutimento, sem uso da PHPS.

Tratamento 4 (T4): O tratamento 4 não dispôs da utilização da PHPS nem a natamicina, sendo este, portanto, denominado como controle.

1.2.1. Método de aplicação da natamicina

Antes de efetuar a etapa de embutimento, os envoltórios foram imersos por 30 minutos em solução de 0,2% de *Devolcid*, produto cujo princípio ativo é a natamicina, conforme orientação do fabricante (DSM Food Specialties Dairy Ingredients).

1.2.2. Método de aplicação da PHPS

O tratamento nas câmaras de maturação de “fase A” foi feito na câmara na dose de 2 g/m³, sendo realizadas aplicações no 2º e no 5º dia de processo, com o produto na câmara.

O tratamento nas câmaras de maturação de “fase B” foi iniciado quando os produtos ainda estavam na “fase A”. Usou-se a dose de 1g /m³ no 1º e no 5º dia. Quando os produtos chegaram às câmaras de maturação de “fase B”, foram realizadas aplicações na dose de 2g /m³, no 1º, 5º e 10º dia de maturação. As aplicações nas salas foram feitas sempre mantendo a circulação interna ligada (ventilação). Quanto à aplicação nos dutos de sucção e de ventilação, foi realizada uma única aplicação, feita na metade do teste, na dosagem de 1g/ m³. Para a aplicação nos dutos, acendeu-se a vela, foi desligada a ventilação por 15 a 20 minutos; ligou-se então a ventilação por mais 30 minutos. Na sequência, foi desligada por mais 15 a 20 minutos. Após isso, ligou-se novamente, deixando finalmente seguir o processo normal.

O tratamento nas câmaras de maturação de “fase C” foi iniciado quando os produtos ainda estavam na “fase A” e enquanto estavam em “fase B”. Usou-se a dose de 1g /m³, realizando aplicações a cada 4 dias, totalizando 5 aplicações. Quando os produtos chegaram às câmaras de “fase C”, foram realizadas aplicações na dosagem de 2g /m³, no 1º, 5º e 10º dia de “fase C”. Quanto à aplicação nos dutos de sucção e de ventilação, foi realizada uma única aplicação, feita na metade do experimento, na dosagem de 1g/ m³. Para a aplicação nos dutos, foi seguido o mesmo procedimento aplicado na “fase B”.

Os tratamentos realizados com PHPS nas câmaras de maturação estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Tratamentos realizados com PHPS nas câmaras de maturação.

Fase do Processo	Tempo Permanência do produto	Metodologia Aplicação	de Dose	Frequência
A	7 dias	Entrada do produto na câmara	2 g/m ³	2º e 5º dia.
B	11 a 17 dias	a) Preparo da câmara B (sem produto) b) Com produto	a) 1 g/m ³ b) 2 g/m ³	a) 1º e no 5º dia b) 2º, 5º e 10º dia
C	9 a 19 dias	a) Preparo da câmara B (sem produto). b) Com produto	a) 1 g/m ³ b) 2 g/m ³	a) A cada 4 dias totalizando 5 aplicações. b) 1º, 5º e 10º dia
B e C	-	Tratamento no sistema de dutos (sucção e ventilação)	Aplicação única por fase 1g/m ³	Metade do experimento.

1.3. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Foram realizadas análises microbiológicas para Contagem de Coliformes a 35°C, Contagem de Coliformes a 45°, Contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva e Pesquisa de *Salmonella* sp. A amostragem indicativa foi composta de

10 peças para cada tratamento, coletadas aleatoriamente ao final da maturação. Os resultados foram quantificados percentualmente dentro de cada tratamento.

A Contagem de Coliformes a 35°C e Contagem de Coliformes a 45°C foi realizada em conformidade com a AOAC - método 991-15 (Petriefilm 3M).

A Contagem de *Staphylococcus coagulase positiva* foi realizada de acordo com a metodologia ISO 6888.

A pesquisa de *Salmonella* sp, foi analisada conforme metodologia AOAC – n° 993- 07 (MSRV).

1.4. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Para determinação de umidade utilizou-se como referência a metodologia indicada pela AOAC (1984), para pH e preparo de soluções tampão foram utilizadas as metodologias oficiais (BRASIL, 1981). A amostragem praticada foi de 10 peças por tratamento, coletadas aleatoriamente da câmara de maturação, ao final do processo de maturação.

1.5. ANÁLISE SENSORIAL (VISUAL)

Todas as peças de produtos, de todos os tratamentos (100% das peças de salames de cada lote testado) também foram submetidas à análise sensorial, para avaliação visual por um grupo treinado, a fim de avaliar a presença de fungos na superfície. Os produtos que apresentassem na sua superfície a presença de fungos eram encaminhados à lavagem para a remoção dos mesmos e posteriormente levados à secagem, por mais dois dias em média, para finalmente ser embalados. Para os produtos onde esta característica não foi detectada, os produtos seguiram diretamente ao setor de embalagem.

coagulase positiva

Pesquisa *Salmonella* sp A A A A A A A A A A

Legenda:

T1: Tratamento com natamicina e PHPS

T2: Tratamento só com PHPS

T3: Tratamento só com natamicina

T4: Tratamento controle (sem natamicina e sem PHPS)

A: Ausência em 25g

2.2. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Os resultados obtidos nas análises laboratoriais de umidade atenderam aos limites especificados para o padrão de identidade e qualidade do produto, em todas as amostras analisadas e em todos os tratamentos, aos quais as amostras foram submetidas. (BRASIL, 2000). O limite de pH definido para os tratamentos foi de 5,2 a 5,5 e o padrão para umidade era de 32 a 35%. Estes parâmetros foram testados, atendendo aos limites especificados. Os valores obtidos estão apresentados na Tabela 3, significando que nenhum dos tratamentos impostos ao produto alterou o comportamento da maturação no que se refere à Legislação Fiscal.

Tabela 3: Resultados físico-químicos em amostras de salame submetidas aos diferentes tratamentos realizados

T	Análise Físico-Química	Amostras									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	Umidade	32,57	32,83	33,67	33,01	33,73	33,70	32,66	32,00	33,82	32,02
	pH	5,20	5,20	5,20	5,30	5,30	5,30	5,20	5,20	5,30	5,30
2	Umidade	33,12	32,92	32,55	32,92	32,00	32,99	33,53	32,47	32,00	32,18
	pH	5,30	5,20	5,30	5,20	5,30	5,30	5,20	5,20	5,30	5,30
3	Umidade	33,25	32,15	32,19	32,14	32,00	32,00	32,42	33,08	32,22	32,64
	pH	5,30	5,20	5,20	5,20	5,20	5,20	5,30	5,30	5,30	5,20
4	Umidade	32,00	32,00	32,47	32,56	32,01	32,49	32,01	32,28	32,00	32,00
	pH	5,20	5,20	5,30	5,20	5,20	5,20	5,20	5,30	5,20	5,20

Legenda:

T1: Tratamento com natamicina e PHPS

- T2: Tratamento só com PHPS
- T3: Tratamento só com natamicina
- T4: Tratamento controle (sem natamicina e sem PHPS)

2.3. ANÁLISE SENSORIAL (VISUAL)

Os fatores que mais influenciaram a proliferação de fungos nas câmaras de maturação foram: A umidade relativa, próxima ao grau de saturação, temperatura (20 a 25°C), processamento e armazenamento defeituoso. Câmaras com longos anos de operação, embora atendam as necessidades do processamento, apresentam o inconveniente da impregnação de esporos tanto nas paredes interiores quanto nos dutos de ventilação. A erradicação torna-se difícil e problemática. Salames impregnados com fungos obrigatoriamente devem ser lavados e re-encaminhados para nova secagem o que implica em mais uma operação com reflexo significativo nos custos. A Tabela 4 apresenta os resultados obtidos das análises sensoriais nos diferentes tratamentos dispostos na Tabela 1. O tratamento que apresentou melhor resultado foi o tratamento três (T3) que era somente com o uso da natamicina, onde 53,28% das amostras não precisaram ser lavados, ou seja, não apresentaram proliferação visual de fungos, portanto, foram diretamente para a embalagem. Por outro lado, a ação combinada da PHPS e natamicina (T1) não surtiu o efeito esperado já que somente 44,66% dos salames não apresentaram fungos. O uso isolado de PHPS (T2) apresentou os piores resultados, com uma proliferação de fungos elevada e superior até mesmo ao controle (T4). Tal fato se deve, provavelmente, a ação estimulante de crescimento sobre fungos específicos ou ação inibitória sobre fungos que em sua condição natural competem pelo substrato e na ausência destes ocorreu um intenso crescimento dos demais. O tratamento controle (T4), representa um processo normal de cura de salame, sendo que 70 % dos salames foram obrigatoriamente submetidos ao processo de lavagem, retornando, desta forma, à câmara de secagem (fase D) por mais 2 dias.

Tabela 4. Resultados sensoriais em amostras de salame submetidas aos diferentes tratamentos realizados

<i>Avaliação Sensorial</i>	<i>Tratamentos</i>			
	1	2	3	4
Ausência de fungos	44,66%	20,00%	53,28%	30,00%
Presença de fungos	53,34%	80,00%	46,72%	70,00%

Legenda:

T1: Tratamento com natamicina e PHPS

T2: Tratamento só com PHPS

T3: Tratamento só com natamicina

T4: Tratamento controle (sem natamicina e sem PHPS)

3 DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Altas temperaturas acompanhadas de altas umidades relativas, complementadas de baixa taxa de agitação do ar ambiental, facilitam o desenvolvimento de fungos. Quando a umidade relativa da câmara climatizada for igual a 80%, inicia-se o aparecimento de fungos de coloração branca apreciados pelo importante papel na qualificação do embutido fermentado (TERRA, 1998).

Quando não intencionais, os fungos nativos podem resultar em danos ao produto porquanto o recobrimento intenso do envoltório dificulta a migração de água do interior do produto e pode danificar o envoltório ao digerir a película, o que torna o envoltório natural ou artificial propenso à ruptura. Quando o comprometimento do produto pelos fungos é pequeno, pode ser consumido, mas quando é intensa a proliferação, pode tornar-se impróprio pelo consumo, com distorção severa do sabor e aroma (EVANGELISTA, 1998). Filtenborg, Frisvad e Thrane (1996) citam diversas espécies de *Penicillium* como exemplo de fungos associados a perdas em embutidos fermentados. Entre esses fungos atuantes estão espécies dos gêneros *Aspergillus* (*A. glaucus*, *cilium*) e *Mucor*. Mais raramente, os gêneros *Cladosporium*, *Geotrichum*, *Candida*, *Scopulariopsis*, *Trichotecium*, entre outros (EVANGELISTA, 1998).

O presente estudo demonstrou que o controle da proliferação fúngica, que é favorecida pela condição de umidade relativa nas câmaras de maturação, pode ser auxiliada pela ação química das substâncias experimentadas. Quando se opta pela maturação lenta e teores finais de umidade menor no produto acabado, com consistência e cor uniforme na massa do produto, o processo de maturação requer que se opere com umidade relativa mais alta, por um tempo maior, o que reforça as condições de proliferação de fungos. A maturação de salames de calibre e comprimento diferentes no mesmo ambiente dificulta a uniformidade da ventilação em toda a câmara e com isso podem formar-se bolsões de umidade relativa e temperatura mais elevadas, havendo focos de maior proliferação de fungos na câmara, o que dificulta o controle de proliferação. Neste trabalho, o uso da natamicina demonstrou que o tratamento inicial no envoltório reduziu o número médio de colônias observadas na superfície dos salames ao final da maturação, quando um percentual maior de peças (53,28%) apresentou condições de ser

embalado sem a lavagem para remoção. Este percentual foi maior que no uso da fumigação apenas com a PHPS (20%) e quando o uso de ambas as substâncias foi combinado, 44,66% das peças não necessitaram ser lavadas. O não uso de substâncias químicas no controle de fungos (T4: Controle), nas condições de umidade relativa e temperatura aplicada nos experimentos resultou em peças de salame com proliferação intensa, com incontáveis colônias sobre a superfície e que depois de lavadas, resultaram em manchas e perfurações que implicaram na necessidade de remoção do envoltório.

À análise visual dos tratamentos realizados foi possível constatar que nos produtos do tratamento realizado somente com a natamicina nos envoltórios (T3), a proliferação dos fungos aparecia na extremidade superior das peças de salame, ou seja, na direção do ar que descia dos dutos, o que não ocorria nos produtos tratados com PHPS (T1 e T2). Isto remete à abordagem sobre a ação da contaminação ambiental incidindo sobre os produtos durante a maturação e pode dever-se ao modo de aplicação da PHPS, por fumigação, que possibilita alcançar inclusive as superfícies dos estaleiros, interiores dos dutos de ventilação e todas as superfícies físicas da câmara de maturação.

O uso da PHPS durante o processo de maturação resultou num percentual maior de colônias de fungos na superfície dos produtos ao final da maturação, observadas durante a análise visual das peças, se comparado ao resultado da natamicina. Entretanto, com o uso da PHPS foi evidenciado neste estudo, que a fixação das colônias era mais superficial: A remoção por escovação ou na lavagem dos salames foi facilitada e não deixaram marcas visíveis no envoltório, como aquelas no experimento que usou apenas a natamicina. De modo especial, foi importante constatar a redução da incidência de fungos de cor preta e de difícil remoção (*Mucor*) quando o tratamento usado foi com PHPS. Os fungos remanescentes ao tratamento feito com PHPS mais evidenciados foram aqueles de cor branca (*Penicillium*).

A opção de tratar o ambiente pode significar a possibilidade de obter-se controle progressivo com a continuidade do tratamento, em contraponto com a natamicina, cujo tratamento produz resultados especificamente sobre o lote tratado, enquanto a contaminação ambiental acontece deliberadamente. O uso da PHPS parece atuar sobre a origem do problema, agindo em micélios e esporos

que compõem a contaminação ambiental e seu efeito de controle neste estudo, apresentou-se mais lento que a natamicina mas possivelmente seu resultado seria de benefício mais prolongado. Neste sentido, um estudo por período de tempo mais prolongado pode ser elucidativo.

4 BIBLIOGRAFIA

BRASIL. Instrução Normativa Nº. 22 de 31 de julho de 2000. Regulamento de Padrão de Identidade e Qualidade de Salames. **Ministério da Agricultura, Pecuária E Abastecimento**. Brasília-DF;

BRASIL. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: II – Métodos físicos e químicos. **Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal**. Brasília-DF, 1981.

BRASIL. Resolução – RDC Nº. 12 de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico para Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Brasília-DF;

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de Alimentos**. 2ª Edição, Editora Atheneu, São Paulo - SP, 1998;

FILTENBORG, O.; FRISVAD, J. C.; THRANE, U. Moulds in Food Spoilage. **International Journal of Food Microbiology**, v. 33, p. 85-102, 1996;

Fumispore. Disponível em http://www.norpacific.com.br/dicas/docs/104apreseo_fumispore_shock2_port.pdf. Acesso em: 02/01/2009;

ISO 6888-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive *Staphylococci* (*Staphylococcus aureus* and other species). **International Standard Organization**, 1999 (E);

MATTIA, A.; CERNIGLIA, J.; BAINES, J. **Safety Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants – Natamycin (Pimaricin)**. Disponível em: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v48je06.htm#2.0>. Acesso em: 02/01/2009;

MENDES, M. V.; RECIO, E.; FOUCES, R.; LUITEN, R.; MARTÍN, J.F.; APARICIO, J.F. Engineered Biosynthesis of Novel Polyenes: A Pimaricin Derivative Produced by Targeted Gene Disruption in *Streptomyces natalensis*. **Chemistry & Biology**, v.8, p. 635-644, 2001;

MEYNIER, A.; NOVELLI, E.; CHIZZOLINI, R.; ZANARDI, E.; GANDEMER, G. Volatile Compounds of Commercial Milano Salami. **Meat Science**, v. 51, p. 175-183, 1998;

MIGLIANELLI, A. **Aditivos em Los Alimentos**. Disponível em: www.ecologiasocialnqn.org.ar/alimentos2.htm. Acesso em: 03/01/2009;

PRANDL, O.; FISCHER, A.; SCHMIDHORFER, T.; SINELL, H. J. **Tecnología y Higiene de la Carne**. Editorial Acribia, Zaragoza (España), 1994;

TERRA, N. N. **Apontamentos de Tecnologia de Carnes**. Editora Unisinos, São Leopoldo - RS, 1998;

THOMAS, L. V.; INGRAM, R. E.; BEVIS, H. E.; BRIGHTWELL, P.; WILSON, N.; DELVES-BROUGHTON, J. Natamycin Control of Yeast Spoilage of Wine. **International Association for Food Protection - Food Protection Trends**, v. 25, p. 510-517, 2005.

UNITED STATES. Official Method 991-14. Coliform and *Escherichia coli* Counts in Foods. **Official Methods of Analysis of AOAC International**, 18thdition, 2005;

UNITED STATES. Official Method 993.07/995/07. Motility Enrichment on Modified Semi-Solid Rappaport-Vassiliadis (MSRV) Medium. **Official Methods of Analysis of AOAC International**, 18thdition, 2005;

5 CONCLUSÕES FINAIS

Conclui-se que a natamicina mostrou visualmente maior eficiência e rapidez na redução no número de colônias na superfície dos produtos. O uso da natamicina dispensou a lavagem do maior número de peças, porém as colônias remanescentes causaram danos aos envoltórios e estes foram irreparáveis, mesmo com o processo de lavagem.

Com o uso da PHPS foi possível controlar melhor os fungos de ação altamente deletéria para os envoltórios, como o gênero *Mucor*. A PHPS demonstrou ação mais lenta, porém progressiva, potencializando seu efeito com a continuidade das aplicações. Com o uso da PHPS, as colônias formadas eram mais superficiais, de fácil remoção e isto pode ser devido ao modo de aplicação, que por ser fumigação, alcança todos os pontos da sala, já que as mesmas câmaras não possuem uniformidade em umidade relativa e temperatura.

As colônias desenvolvidas em condição de menor aderência aos envoltórios (mais superficiais) fez reduzir a necessidade de lavar as peças e quando a PHPS foi usado em combinação com a natamicina, o resultado foi ainda mais positivo, indicando haver sinergia entre as substâncias, controlando nas diferentes fases do processo e atingindo o produto e o ambiente.

6 TRABALHOS FUTUROS

Pode ser indicada a realização de estudos da possibilidade de eliminar a necessidade de lavar salames após a maturação, com o uso mais prolongado da PHPS isolada ou de forma combinada com a imersão dos envoltórios em natamicina, já que os resultados demonstraram efeito progressivo no controle fúngico e como consequência, redução progressiva no número de peças que necessitavam ser lavadas e com danos irreversíveis nos envoltórios.

Também, o uso de material inoxidável nos estaleiros de câmaras de maturação, que apesar de investimento inicial de valor elevado, ao longo do tempo a relação custo-benefício poderia justificar um estudo.

Ainda, o uso isolado da PHPS em intervalos menores de aplicação, em câmaras com perfeitas condições de distribuição de ar, para melhor distribuição do princípio ativo, aplicando as demais condições do ensaio executado.

ANEXO I

ANEXO I

Tabela 1: Defeitos na carne fresca, embalada a vácuo e embutidos crus

Produto	Defeito	Micro-organismo
Fresca, refrigerada (0 a 5 °C)	Mau cheiro, limo, descoloração	<i>Pseudomonas, Aeromonas, Alca- ligenes, Acinetobacter, Microbacterium, Moraxella, Proteus, Flavobacterium,</i>
	Lipólise, odor penetrante	<i>Alteromonas, Saccharomyces Pseudomonas, leveduras</i>
	Embolorado	<i>Penicillium</i>
	Fios (Whiskers)	<i>Thamnidium</i>
	Mancha preta	<i>Cladosporium</i>
	Mancha branca	<i>Sporotrichum</i>
	Embalado a vácuo	Acidez, doçura, rançoso
Carne defumada	Limo	Leveduras
Embutidos fermentados	Manchas	Bolores

Fonte: Banwart, G. J. *Basic Food Microbiology*. 2. ed., New York, Van Nostrand Reinhold, 1989.

Tabela 2: Limites de temperatura do crescimento de micro-organismos

Micro-organismo	Temperatura (°C)		
	Mínima	Ótima	Máxima
Bactérias			
<i>Acetobacter</i>	5	-	42
<i>Aeromonas</i>	0 a 5	25 a 30	38 a 41
<i>Bacillus cereus</i>	10	-	47 a 50
<i>Brevibacterium</i>	5	-	42
<i>Clostridium</i>	0 a 45	-	60

<i>C. botulinum</i>	3 a 10	30 a 40	42 a 45
<i>C. perfringens</i>	15 a 20	30 a 40	45 a 51
<i>C. putrefaciens</i>	0	20 a 25	30
<i>C. thermosaccharolyticum</i>	43 a 45	55 a 62	70 a 71
<i>Escherichia coli</i>	3 a 10	37 a 41	48 a 50
<i>Lactobacillus</i>	5	30 a 40	53
<i>Leuconostoc</i>	10	20 a 30	40
<i>Micrococcus</i>	10	25 a 30	45
<i>Moraxella</i>	-1 a 2	30	41 a 42
<i>Propionibacterium</i>	2 a 3	30 a 37	45
<i>Proteus</i>	10	37	43 a 45
<i>Pseudomonas</i>	-7 a 4	20 a 30	31 a 43
<i>P. aeruginosa</i>	8	-	42
<i>P. fluorescens</i>	0 a 6	20 a 25	40
<i>Salmonella</i>	5 a 10	35 a 37	46 a 49
<i>Staphylococcus</i>	5 a 10	35 a 40	46 a 48
<i>S. aureus</i>	5 a 10	35 a 39	44 a 48
<i>Streptococcus cremoris</i>	-	25 a 30	-
<i>S. faecalis</i>	5 a 10	37	49 a 51
<i>S. lactis</i>	10 a 15	25 a 30	40
<i>S. thermophilus</i>	20	40 a 45	52
<i>Vibrio</i>	-	10 a 37	-
<i>V. parahaemolyticus</i>	3 a 13	35 a 37	42 a 44
<i>Xanthomonas</i>	0 a 5	25 a 31	40
<i>Yersinia enterocolitica</i>	0 a 4	-	37
Bolores			
<i>Aspergillus fumigatus</i>	-	30 a 40	-
<i>Botrytis cinerea</i>	-1	20	30
<i>Cladosporium</i>	-5 a -8	-	-
<i>Penicillium rubrum</i>	-	25 a 28	-

<i>Rizopus stolonifer</i>	5	-	25
Leveduras			
<i>Candida</i>	0	-	29 a 48
<i>C. lipolytica</i>	5	25	35 a 40
<i>Hansenula</i>	-	37 a 42	50
<i>Saccharomyces</i>	0 a 7	20 a 35	40
<i>Torulopsis</i>	0	17 a 25	30 a 35

Fonte: Banwart, G. J. *Basic Food Microbiology*. 2. ed., New York, Van Nostrand Reinhold, 1989.

Tabela 3: Limites de pH para o crescimento microbiano

Micro-organismo	pH		
	Mínimo	Ótimo	Máximo
Bactérias (maioria)	4,5	6,5 a 7,5	9,0
<i>Acetobacter</i>	4,0	5,4 a 6,3	-
<i>Bacillus subtilis</i>	4,2 a 4,5	6,8 a 7,2	9,4 a 10
<i>Clostridium botulinum</i>	4,8 a 5,0	6,0 a 8,0	8,5 a 8,8
<i>C. perfringens</i>	5,0 a 5,5	6,0 a 7,6	8,5
<i>C. sporogenes</i>	5,0 a 5,8	6,0 a 7,6	8,5 a 9,0
<i>Erwinia carotovora</i>	4,6	7,1	9,3
<i>Escherichia coli</i>	4,3 a 4,4	6,0 a 8,0	9,0 a 10
<i>Gluconobacter oxydans</i>	4,0 a 4,5	5,5 a 6,0	-
<i>Lactobacillus</i> (maioria)	3,0 a 4,4	5,5 a 6,0	7,2 a 8,0
<i>L. acidophilus</i>	4,0 a 4,6	5,5 a 6,0	7,0
<i>L. plantarum</i>	3,5	5,5 a 6,5	8,0
<i>Leuconostoc cremoris</i>	5,0	5,5 a 6,0	6,5
<i>L. oenos</i>	-	4,2 a 4,8	-
<i>Pediococcus</i>	2,9	4,5 a 6,5	7,8

<i>cerevisiae</i>			
<i>Propionibacterium</i>	4,7	6,2 a 7,0	7,5
<i>Proteus vulgaris</i>	4,4	6,0 a 7,0	8,4 a 9,2
<i>Pseudomonas</i>	5,6	6,6 a 7,0	8,0
(maioria)			
<i>P. aeruginosa</i>	5,6	6,6 a 7,0	8,0 a 9,0
<i>Salmonella</i>	4,5 a 5,0	6,0 a 7,5	8,0 a 9,6
(maioria)			
<i>S. typhi</i>	4,0 a 4,5	6,5 a 7,2	8,0 a 9,0
<i>S. choleraesuis</i>	5,0	7,0 a 7,6	8,2
<i>Serratia</i>	4,6	6,0 a 7,0	8,0
<i>marcescens</i>			
<i>Staphylococcus</i>	4,0 a 4,7	6,0 a 7,0	9,5 a 9,8
<i>aureus</i>			
<i>Streptococcus</i>	4,1 a 4,8	6,4	9,2
<i>lactis</i>			
<i>Vibrio</i>	5,5 a 6,0	-	9,0
<i>V. cholerae</i>	-	8,6	-
<i>V.</i>	4,8 a 5,0	7,5 a 8,5	11,0
<i>parahaemolyticus</i>			
Leveduras	1,5 a 3,5	4,0 a 6,5	8,0 a 8,5
<i>Hansenula</i>	-	4,5 a 5,5	-
<i>Kluyveromyces</i>	1,5 a 2,0	-	-
<i>Pichia</i>	1,5	-	-
<i>Saccharomyces</i>	2,0 a 2,4	4,0 a 5,0	-
<i>cerevisiae</i>			
<i>S. rouxii</i>	1,5	3,5 a 5,5	8,5 a 10,5
Bolores	1,5 a 3,5	4,5 a 6,8	8,0 a 11
<i>Aspergillus niger</i>	1,2	3,0 a 6,0	-
<i>A. oryzae</i>	1,6 a 1,8	-	9,0 a 9,3
<i>Botrytis cinerea</i>	2,5	-	7,4
<i>Mucor</i>	-	3,0 a 6,1	9,2

<i>Penicillium</i>	1,9	4,5 a 6,7	9,3
<i>Rhizopus nigricans</i>	-	4,5 a 6,0	-

Fonte: Banwart, G. J. *Basic Food Microbiology*, 2. Ed., New York, Van Nostrand Reinhold, 1989.

Tabela 4: Alguns gêneros contendo espécies ou cepas lipolíticas

Bactérias	Fungos
<i>Acinetobacter</i>	<i>Absidia</i>
<i>Aeromonas</i>	<i>Alternaria</i>
<i>Alcaligenes</i>	<i>Aspergillus</i>
<i>Bacillus</i>	<i>Candida</i>
<i>Chromobacterium</i>	<i>Cladosporium</i>
<i>Corynebacterium</i>	<i>Endomyces</i>
<i>Enterobacter</i>	<i>Fusarium</i>
<i>Flavobacterium</i>	<i>Geotrichum</i>
<i>Lactobacillus</i>	<i>Mucor</i>
<i>Micrococcus</i>	<i>Neurospora</i>
<i>Pseudomonas</i>	<i>Penicillium</i>
<i>Serratia</i>	<i>Rhizopus</i>
<i>Staphylococcus</i>	<i>Torulopsis</i>
<i>Streptomyces</i>	

Fonte: Banwart, G. J. *Basic Food Microbiology*. 2. ed., New York, Van Nostrand Reinhold, 1989.

Tabela 5: Principais grupos de alimentos de acordo com a atividade de água (Aw)

Atividade de água	Alimento	Concentração* de NaCl ou Sacarose	Micro-organismo
0,85 ≤ Aw < 0,93	Embutidos fermentados (secos) Carne seca Presunto cru Queijo tipo Cheddar Leite condensado	NaCl > 17 % Sacarose na concentração de saturação	<i>S. aureus</i> , bolores e leveduras

açucarado

*Porcentagem em massa.

Fonte: Leitão, M. F. F. Microbiologia de alimentos. In: Roitman, et al. *Tratado de Microbiologia*. São Paulo, Manole, 1988.

Valores de atividade de água mínima para o crescimento de micro-organismos (BANWART; 1989):

Tabela 6: Valores aproximados de atividades de água mínimas para o crescimento de micro-organismos

Micro-organismo	A _w mínima	Micro-organismo	A _w mínima
Maioria das bactérias deterioradoras	0,90 a 0,91	<i>Staphylococcus albus</i>	0,88 a 0,92
<i>Acinetobacter</i>	0,95 a 0,98	<i>S. aureus</i>	0,83 a 0,92
<i>Aeromonas</i>	0,95 a 0,98	<i>Streptococcus</i>	0,92 a 0,98
<i>Alcaligenes</i>	0,95 a 0,98	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	0,94 a 0,98
<i>Arthrobacter</i>	0,95 a 0,98	Bactérias halofílicas	0,75
<i>Bacillus</i>	0,90 a 0,99	Maioria das leveduras	0,87 a 0,94
<i>B. cereus</i>	0,92 a 0,95	Leveduras osmofílicas	0,60 a 0,78
<i>Citrobacter</i>	0,95 a 0,98	Maioria dos bolores	0,70 a 0,80
<i>Clostridium botulinum</i>	0,90 a 0,98	Bolores xerofílicos	0,60 a 0,70
Tipo A	0,93 a 0,95	<i>Aspergillus</i>	0,68 a 0,88
Tipo B	0,93 a 0,96	<i>A. glaucus</i>	0,70 a 0,75
Tipo E	0,94 a 0,97	<i>A. flavus</i>	0,78 a 0,90
<i>C. perfringens</i>	0,93 a 0,97	<i>A. halophilicus</i>	0,68
<i>Corynebacterium</i>	0,95 a 0,98	<i>A. niger</i>	0,80 a 0,84
<i>Enterobacter</i>	0,95 a 0,98	<i>Botrytis cinerea</i>	0,93
<i>Escherichia coli</i>	0,94 a 0,97	<i>Debaryomyces</i>	0,87 a 0,91
<i>Flavobacterium</i>	0,95 a 0,98	<i>Fusarium</i>	0,80 a 0,92

<i>Klebsiella</i>	0,95 a 0,98	<i>Hansenula</i>	0,89 a 0,90
<i>Lactobacillus</i>	0,90 a 0,96	<i>Mucor</i>	0,80 a 0,93
<i>Leuconostoc</i>	0,96 a 0,98	<i>Penicillium</i>	0,78 a 0,90
<i>Micrococcus</i>	0,90 a 0,95	<i>Rhodotorula</i>	0,89 a 0,92
<i>M. roseus</i>	0,90 a 0,93	<i>Saccharomyces</i>	0,90 a 0,94
		<i>cerevisiae</i>	
<i>Pseudomonas</i>	0,96 a 0,98	<i>S. rouxii</i>	0,62 a 0,81
<i>aeruginosa</i>			
<i>P. fluorescens</i>	0,94 a 0,97	<i>Xeromyces</i>	0,60 a 0,61
		<i>bisporus</i>	
<i>Salmonella</i>	0,93 a 0,96	-	-

Fonte: Banwart, G. J. *Basic Food Microbiology*. 2.ed., New York, Van Nostrand Reinhold, 1989.

ANEXO II

ANEXO II

Autorização de Uso de Produto - Natamicina




SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO/MAA
DEPARTAMENTO DE INSPEÇÃO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL/DIPOA
DIVISÃO DE OPERAÇÕES INDUSTRIAIS/DOI

Ofício : AUP/DOI/DIPOA N° 501/2001 Em. 02.07.2001
Da : Divisão de Operações Industriais - DOI/DIPOA
Endereço : Ministério da Agricultura - Anexo "A" - 4° andar - sala 426
: Brasília/DF - CEP. 70.043-900

Assunto : **Autorização de Uso de Produto**
Comunicamos, para os devidos fins, que este Departamento autorizou o uso do produto, abaixo relacionado, nos estabelecimentos sob Inspeção Federal, conforme constante no Processo: 21000.005606/2001-95

PRAZO DE VALIDADE : 30.07.2006
REGISTRO NO MINISTÉRIO DA SAÚDE : Aprovado conforme Resolução RDC ANVS 28/01
NOME DO PRODUTO : NATAMICINA
MARCA : DEVOLCID
FABRICANTE : DSMFood Specialties Dairy Ingredients
Holanda
REPRESENTANTE : GLOBALFOOD Sistemas, Ingredientes e Tecnologia
para Alimentos Ltda
ENDEREÇO : Rua Alberto Sampaio, 45 – Vila Santa Catarina
São Paulo/SP CEP: 04373-030
FINALIDADE E MODO DE EMPREGO : Empregar na eliminação de fungos e bolores em cascas duras e semi-duras de queijos e na superfície de produtos cárneos embutidos; utilizar de acordo com os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade.

Declarar no Rótulo:
Conservante/Natamicina


Paulo Roberto André
Fiscal Federal Agropecuário – CFMV-0423
Chefe Substituto da DOI/DIPOA

cb

ANEXO III

ANEXO III

Autorização de Uso do Produto *Fumispore Shock* (PHPS)



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO
DEPARTAMENTO DE INSPEÇÃO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL/DIPOA
DIVISÃO DE OPERAÇÕES INDUSTRIAIS/DOI

Ofício: **AUP/DOI/DIPOA Nº 773/2003** Em: **06.03.2003**

Da: Divisão de Operações Industriais - DOI/DIPOA
Endereço: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento / Secretária de Defesa Agropecuária / Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal / Divisão de Operações Industriais - Esplanada dos Ministérios - Bloco D - Anexo "A" - 4º andar - sala 426- Brasília/DF - CEP. 70.043-900
Assunto: **Autorização de Uso de Produto**

Comunicamos, para os devidos fins, que conforme a Instrução Normativa nº 08, de 16 de janeiro de 2002, publicado no DOU de 17/01/2002, Seção I, págs. 6-7, o DIPOA autoriza o uso do produto, abaixo relacionado, nos estabelecimentos sob Inspeção Federal, de acordo com o constante no Processo: 21000.010515/2002 - 68.

PRAZO DE VALIDADE	: 30.03.2013
NOME DO PRODUTO	: FUNGICIDA
MARCA	: FUMISPORE SHOCK
FABRICANTE	: Laboratoire de Chimie et Biologie França
IMPORTADOR	: Norpacific do Brasil Ltda
ENDEREÇO	: Av. Brigadeiro Faria Lima, 1818 - conj. 303 - sala 1 Jardim Paulistano, 05506-000 - São Paulo/SP
FINALIDADE E MODO DE EMPREGO	: Empregar exclusivamente como fungicida antifúngico de estocagem de produtos de origem animal.

Nota: A rotulagem do produto deverá atender ao disposto no item 2.4 da Instrução Normativa Nº 08, de 16/01/2002.

BRASIL - FILLEROS
ANEXO III - Fungicida Antifúngico de Estocagem de Produtos de Origem Animal - Fumispore Shock - 100g/100ml
Nº 773/2003
1027444-112

Paulo Roberto Andre
Fiscal Federal Agropecuario - CFMV 0423
Chefe Substituto da DOI/DIPOA

CB