



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DOS ALIMENTOS**

**USO DE NATAMICINA NO CONTROLE DO
DESENVOLVIMENTO DE FUNGOS EM SALAME
TIPO ITALIANO**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Jean Carlos Brustolin

Santa Maria, RS, Brasil

2009

**USO DE NATAMICINA NO CONTROLE DO
DESENVOLVIMENTO DE FUNGOS EM SALAME TIPO
ITALIANO**

por

Jean Carlos Brustolin

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de
Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos,
como
requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Orientador: Dr. Ernesto Kubota

Santa Maria, RS, Brasil

2009

© 2009

Todos os direitos autorais reservados a Jean Carlos Brustolin. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita com autorização por escrito do autor.

Endereço: Rua Eurico Gaspar Dutra, n.735, Bairro São Cristóvão, Chapecó, SC, 89803-214
Fone (0xx)49 9121-2500; Fax (0xx)49 3329-6905; End. Eletr: jean10eng@hotmail.com

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**USO DE NATAMICINA NO CONTROLE DO DESENVOLVIMENTO DE
FUNGOS EM SALAME ITALIANO**

elaborada por
Jean Carlos Brustolin

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos

COMISSÃO EXAMINADORA:

Ernesto Kubota, Dr.
(Orientador)

Nelcindo Terra, Dr.
(Co-Orientador)

Neila Silvia Pereira dos Santos Richards, Dra.

Helen Treichel, Dra.

Santa Maria, 25 de Maio de 2009

AGRADECIMENTOS

Agradeço de forma especial a conclusão de mais uma etapa importante de minha vida a várias pessoas especiais que sem elas eu não teria conseguido:

Primeiramente, o meu orientador o Professor Ernesto Kubota, pela grande ajuda tanto como orientador da Dissertação, sendo crítico para a melhoria de cada linha, cada palavra aqui escrita, como pela ajuda para as trocas de horários do programa que fez com que conseguíssemos concluir mais essa etapa mesmo estando trabalhando e morando em outro estado, muito obrigado Ernesto! O senhor além de um grande professor é um grande ser humano, parabéns!

A minha esposa amada, Karine S. Brustolin pelo incentivo, dedicação e carinho. Você é uma benção na minha vida. Você me faz a cada dia querer ser melhor em tudo. Te amo e te admiro a cada dia mais.

Aos meus pais Jurema e João por terem me dado exemplo de caráter e estar em todos os momentos me apoiando em tudo que fosse necessário. Amo vocês.

À minha “parcera” de viagem e de Mestrado, a Marlene (grande Marle), e seu marido “Péar”, pelas inúmeras caronas e pelo companheirismo, por dividir os “X-egg” na beira da estrada. Marle, você fez cada viagem até Santa Maria no ônibus, muito mais curta e divertida. Obrigado pelo companheirismo.

Ao pessoal do apartamento (Michele, Marceli, João, Angela, Andressa) por nos deixarem à vontade nas poucas horas que tínhamos para tentar dormir. Vocês me fizeram me sentir em casa. Em especial a minha sempre e eterna amiga Michele, sempre preocupada, se tinha tomado café, me apressando pra não perder o ônibus e nos recebendo sempre com um sorriso e um abraço apertado apesar do horário. Mi você é uma irmã que tive o privilégio de escolher, obrigado por tudo, continue sendo essa pessoa maravilhosamente do bem que você é.

Ao pessoal da Aurora todos que de alguma forma me incentivaram, em especial ao Cezar por sempre me ajudar no que precisava, incluindo aqui a ajuda para abonar as horas em que estava em Santa Maria a Josi, o Chico e a Poliana pela ajuda no experimento. Além do meu amigo Fernando e da minha grande amiga Ise, pela ajuda.

Todos vocês tem uma grande parcela nessa conquista e sou eternamente grato, obrigado!

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos
Universidade Federal de Santa Maria

USO DE NATAMICINA NO CONTROLE DO DESENVOLVIMENTO DE FUNGOS EM SALAME TIPO ITALIANO

AUTOR: JEAN CARLOS BRUSTOLIN

ORIENTADOR: DR. ERNESTO KUBOTA

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 25 de Maio de 2009.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o comportamento da natamicina em diferentes concentrações e forma de aplicação no controle do desenvolvimento de bolores e leveduras em salames tipo italiano maturados em salas de maturação de madeira. O acompanhamento foi realizado através de contagem de bolores e leveduras com swabs e acompanhamento fotográfico semanal. Também foi avaliado o efeito da natamicina em relação a aspectos físico químicos como a atividade de água, umidade, gordura e proteína e o aspecto sensorial foi avaliado através do teste de comparação múltipla. Foram avaliados os salames que tiveram suas tripas hidratadas com solução de natamicina nas concentrações de 0,1%, 0,05% e 0,025% antes do embutimento e ainda a 0,1% aspergido após a defumação em fumeiro. Verificou-se uma contagem de bolores e leveduras menor nas amostras tratadas com concentração de 0,1% de natamicina tanto por imersão quanto por aspersão. A natamicina não interferiu no aspecto sensorial e nem nos aspectos físico químicos.

Palavras-chave: Salame tipo Italiano, natamicina, salas de maturação de madeira e bolores.

ABSTRACT

This study had as objective to evaluate the behavior of natamycin in different concentrations and forms of application to control the growth of molds in Italian type salami matured in maturation rooms wood through counting of molds and yeasts with swabs and photographic monitoring weekly. Was also evaluated the effect of natamycin on the physical chemical aspects such as water activity, moisture, fat and protein and the sensory aspect evaluated by multiple comparison test. Salami that were evaluated had their casings hydrated with a solution of natamycin with 0.1%, 0.05% and 0,025% before the stuffed and the 0.1% sprayed after smoking in smoking room. It was found that there was a lower count of molds and yeasts in the samples treated with 0.1% natamycin both by immersion or by spraying. The natamycin did not interfere in the sensory and physical chemical aspects.

Keywords: Italian type salami, natamycin, maturation rooms wood and molds.

LISTA DE ABREVIATURAS

pH – Potencial de hidrogenização

A_w – Atividade da água

LISTA DE TABELAS

TABELA 1- Fungos filamentosos de maior frequência, isolados de embutidos secos e do ar circulante em câmaras de maturação de fábricas de salames.....	20
TABELA 2 – Valores de pH na parte interna do salame tipo Italiano contendo diferentes concentrações de natamicina durante o período de 28 dias dentro da câmara de maturação de madeira.....	30
TABELA 3 – Valores de Aw na parte interna do salame tipo Italiano contendo diferentes concentrações de natamicina durante o período de 28 dias dentro da câmara de maturação de madeira.....	31
TABELA 4 – Valores de Umidade (%) na parte interna do salame tipo Italiano contendo diferentes concentrações de natamicina durante o período de 28 dias dentro da câmara de maturação de madeira.....	33
TABELA 5 – Valores de Umidade (%) na parte interna do salame tipo Italiano contendo diferentes concentrações de natamicina durante o período de 28 dias dentro da câmara de maturação de madeira.....	34
TABELA 6 – Valores de Proteínas (%) na parte interna do salame tipo Italiano contendo diferentes concentrações de natamicina durante o período de 28 dias dentro da câmara de maturação de madeira.....	35
TABELA 7 – Valores Encontrado nas análises dos swabs na parte externa do salame tipo Italiano contendo diferentes concentrações de natamicina durante o período de 28 dias dentro da câmara de maturação de madeira.....	36
TABELA 8 – Valores das médias encontradas para os atributos textura, sabor, aroma e cor avaliados por 15 degustadores treinados no resultado da avaliação sensorial nos salames tipo Italiano.....	

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Hidratação em caixa plástica da tripa de colágeno calibre 70 mm antes de ser embutida.....	24
FIGURA 2 - Temperatura e umidade durante o processo de defumação em fumeiro.....	28
FIGURA 3 - Temperatura e umidade na sala de maturação de madeira idem anterior.....	29
FIGURA 4 - Peças de salame tipo Italiano com 7 dias de maturação.....	37
FIGURA 5 - Peças dos salame tipo Italiano com 14 dias de maturação.....	38
FIGURA 6 - Peças do salame tipo Italiano com 21 dias em sala de maturação.....	40
FIGURA 7 - Fotos comparativas das amostras após 28 dias na sala de maturação.....	42

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	13
1 OBJETIVOS.....	14
1.1 Objetivo geral.....	14
1.2 Objetivo específico.....	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1 Salame tipo Italiano.....	15
2.2 Uso de culturas starters em produtos cárneos.....	16
2.2.1 Microrganismos ‘starters’.....	16
2.3 Bolores indesejáveis.....	17
2.4 Natamicina.....	20
2.5 Qualidade sensorial.....	21
2.6 Aplicação da natamicina na Indústria.....	21
3 MATERIAL E MÉTODO.....	23
3.1 Tratamentos utilizados.....	24
3.2 Análises físico-químicas.....	24
3.2.1 Umidade.....	24
3.2.2 Determinação do potencial de hidrogenização.....	25
3.2.3 Determinação da atividade da água.....	25
3.2.4 Determinação de proteínas e de lipídeos.....	25
3.3 Análises microbiológicas.....	26
3.3.1 Contagem de bolores e fungos.....	26
3.4 Avaliação sensorial.....	26
3.5 Análise estatística.....	27
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28

4.1 Temperatura e umidade durante a defumação e maturação.....	28
4.2 Análises físico-químicas.....	30
4.2.1 Potencial de hidrogenização.....	30
4.2.2 Atividade de água.....	31
4.2.3 Umidade.....	32
4.2.4 Gordura.....	34
4.2.5 Proteínas.....	35
4.3 Análises microbiológicas (Swabs) e aspecto visual.....	36
4.4 Avaliação sensorial.....	43
5 CONCLUSÃO.....	45
BIBLIOGRAFIA.....	46
ANEXO.....	52
ANEXO A – Teste de comparação múltipla.....	52

INTRODUÇÃO

O Salame tipo Italiano é um produto cárneo defumado e maturado que possui um alto valor agregado. Produzido normalmente no Brasil com carne suína, é um produto considerado pela indústria como nobre.

Muitas indústrias no Brasil ainda utilizam equipamentos e salas de maturação que não permitem um controle eficiente da umidade, temperatura e velocidade de ar. Muitas dessas salas são feitas de madeira, o que dificulta a implantação de uma metodologia eficiente de limpeza e sanitização do ambiente. Não se pode utilizar um processo de lavagem com água, já que as paredes podem absorvê-la, deixando o ambiente com alta umidade, dificultando assim, a secagem do salame e favorecendo assim o crescimento de bolores e leveduras indesejáveis que podem produzir toxinas colocando em risco assim a segurança alimentar dos consumidores.

A inexistência de complexos climatizados em diversas empresas processadoras de salames e o controle não totalmente efetivo das condições ambientais nas câmaras climatizadas existentes favorece o desenvolvimento de uma microbiota fúngica indesejável. A constituição dessa microbiota pode apresentar fungos toxigênicos e/ou constituir um problema comercial por descaracterização dos produtos, através de alterações de cor e sabor, ou ataque ao envoltório do embutido (LEISTNER & PITT,1977).

A natamicina é um antibiótico produzido por *Streptomyces natalensis* que atua contra o crescimento de bolores e leveduras e é inativo contra bactérias. No Brasil vem sendo bastante usado na superfície de queijos para inibir o crescimento de bolores. Nesse trabalho utilizamos na superfície dos salames tipo Italiano para inibir o crescimento de bolores e leveduras indesejáveis em salas de maturação de madeira, onde não se tem um controle efetivo de temperatura, umidade e velocidade de ar.

1 OBJETIVOS

1.1 Objetivo geral

Controlar o crescimento de bolores indesejáveis que podem produzir toxinas, utilizando a natamicina em salames tipo Italianos maturados em salas de cura de madeira.

1.2 Objetivo específico

Avaliar o efeito antifúngico da natamicina em diferentes concentrações e forma de aplicação;

Verificar o efeito do tratamento com natamicina nas características físico-químicas do salame tipo italiano;

Avaliar o efeito do tratamento com natamicina nas características sensoriais do salame tipo italiano.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Salame tipo italiano

Entende-se por salame o produto cárneo industrializado obtido de carne suína ou suína e bovina, adicionado de toucinho e ingredientes, embutido em envoltórios naturais e/ou artificiais, curado, cru, fermentado, maturado, defumado ou não e dessecado. A presença de bolores característicos na superfície é consequência natural do processo de fabricação.

No Brasil, as características de identidade e qualidade de oito tipos de salame estão definidas, sendo que a diferenciação entre eles está no tipo de matéria prima (espécie animal), na granulometria da carne e do toicinho e principalmente na condimentação (BRASIL, 2000).

O salame pode ser definido como a mistura de carne triturada, gordura com sal, nitrato e/ou nitrito, açúcar e condimentos a qual é embutida e submetida a processo de fermentação e secagem, proporcionando ao produto final grande vida de prateleira, como consequência da inibição de bactérias patogênicas e deteriorantes (HUGAS & MONFORT, 1997).

Segundo Forrest *et al.* (1979) a adição de sais de cura como cloreto de sódio, nitratos e nitritos de sódio ou potássio, tem efeito no produto em relação ao sabor, a coloração, a proteção contra oxidação lipídica, ao aroma e proteção antimicrobiana. O cloreto de sódio auxilia no sabor do produto e também na proteção antimicrobiana, diminuindo a quantidade de água disponível no mesmo. O nitrito (NO_2^-) é componente ativo na obtenção da coloração vermelha e sabor da carne curada, enquanto o nitrato (NO_3^-) é uma fonte de nitrito, face a ação de bactérias redutoras em pH (potencial de hidrogenização) ácido. O nitrito produz como intermediário o monóxido de nitrogênio (NO) que vai combinar-se com a mioglobina (contida no sarcoplasma das fibras do músculo estriado) e formar mioglobina nitrosa, responsável pela cor vermelha atraente dos produtos curados.

Quanto à atividade antimicrobiana, Terra (1993) acredita que o nitrito, ao reagir com grupos sulfídricos, produza compostos não metabolizáveis pelos microrganismos em

condições anaeróbicas. Com o uso de nitrito desapareceram as intoxicações pelo *Clostridium botulinum* geralmente fatais ao consumidor de produtos cárneos.

O salame tipo Italiano fabricado no Brasil é predominantemente obtido a partir de carne suína (mínimo 60%), a maturação é de aproximadamente trinta dias, seu aroma e sabor são suaves e valores de pH estão em torno de 5,4 (TERRA, 1998). Quanto às características físico-químicas, o regulamento técnico de identidade e qualidade do salame tipo Italiano (BRASIL, 2000), regulamenta que o salame tipo Italiano no Brasil deve possuir: Aw(atividade de água) (máx.) 0,90; umidade (máx) 35 %; gordura (máx.) 32 %; proteína (mín.) 25 %; carboidratos totais (máx.) 4,0%.

Segundo Terra (1998), a fabricação do salame pode ser descrita, de forma simplificada, em duas etapas distintas. Em uma etapa inicial, ocorre a fermentação com o desenvolvimento das características sensoriais do produto e em uma etapa final desidratação, que além de reforçar algumas propriedades sápidas, reduz a atividade de água a níveis insuportáveis aos microrganismos responsáveis pela deterioração do salame.

A fabricação de salame ocorre em duas fases: na primeira, há a fermentação com a ocorrência simultânea de acidificação e de formação de cor durante sete dias; a segunda fase consiste na desidratação como decorrência da fermentação, ocorrendo em torno de vinte e três dias. Ao final deste período, o salame tipo Italiano deverá apresentar pH entre 5,2 a 5,4 e atividade de água(Aw) igual a 0,87, caracterizando a finalização do processo. Ambas as fases ocorrem na câmara de maturação sob condições de umidade relativa, temperatura e velocidade do ar controladas (FERNÁNDEZ *et al.*, 2001).

O processo fermentativo ocupa a posição de alta relevância na fabricação de salame, pois participa diretamente na geração de cor, sabor, aroma, textura e vida útil (TERRA, 1998).

2.2 Uso de culturas starters em produtos cárneos

As culturas starters são adicionadas aos produtos cárneos fermentados com a função de inibir patógenos e aumentar o período de vida útil, sem promover grandes alterações nas características físicas e sensoriais (LÜCKE, 2000).

2.2.1 Microrganismos ‘starters’

A carne é um excelente meio de crescimento para os microrganismos e o uso de culturas *starters* fornece número de microrganismos suficiente para assegurar dominância numérica sobre contaminantes da flora natural, os quais incluem patógenos. Portanto, o uso de culturas *starters* em combinação com processos de controle apropriados, garantem a segurança e a qualidade do produto final (BACUS e BROWN, 1981; JESSEN, 1995).

A cultura *starter* consiste em culturas simples ou mistas de várias cepas de microrganismos inócuos. Sob condições controladas, as cepas selecionadas podem induzir atividades enzimáticas para produzir modificações específicas no substrato, com a possibilidade de eliminação potencial de *Salmonella*, *Staphylococcus* e *Clostridium*. Conseqüentemente, alimentos com condições de qualidade satisfatórias (NISKANEN e NURMI, 1976; SIRVIO *et al.*, 1977; MASTERS, 1979).

As culturas *starters*, atualmente comercializadas, são geralmente compostas de mais de um microrganismo, visando somar suas ações para se obter o efeito desejado no produto final. Os microrganismos mais utilizados são as bactérias ácido lácticas (*Lactobacillus* e *Pediococcus*) em combinação com *Staphylococcus* coagulase negativa (*Micrococcus* e *Staphylococcus*).

Enquanto as bactérias ácido lácticas promovem a segurança do produto por redução do pH através da fermentação, os *Staphylococcus* coagulase negativa desenvolvem o aroma, *flavour* e a cor (SIMONOVÁ *et al.*, 2006).

2.3 Bolores

Os bolores vêm sendo usados na produção de produtos cárneos fermentados há muitos séculos e têm um papel importante no desenvolvimento do aroma e do sabor desses produtos (COOK, 1995).

Bolores são os habitantes universais dos solos. Muitos de seus metabólitos são contaminantes de alimentos. As micotoxinas são metabólitos tóxicos produzidos por bolores, as quais podem causar serias doenças por ingestão, inalação ou contato com a pele (Hsieh, 1987).

O desenvolvimento de bolores na superfície de salames é considerado como fator de qualidade. Para tanto, seu desenvolvimento, dificilmente evitável, pode ser explorado como aspecto de qualidade que venha complementar as mudanças bioquímicas envolvidas na

maturação do produto. O controle não totalmente efetivo das condições ambientais nas câmaras climatizadas existentes favorecem o desenvolvimento de uma microbiota fúngica indesejável.

O crescimento de bolores desejáveis previne os efeitos adversos do oxigênio (rancificação e descoloração) e permite uma secagem mais uniforme (SINGH & DINCHO, 1994). Adicionalmente, implica na degradação de ácido láctico, importante fator do "flavour" desse tipo de produto (RÖDEL, SIEBING & KROCKEL, 1994).

Segundo Grazia *et al.* (1986), estudos com salames italianos têm demonstrado que os bolores mais comumente encontrados em embutidos espontaneamente inoculados pertencem a espécies altamente micotoxigênicas. *Penicillium verrucosum* var. *cyclopium* era mais comum nos embutidos produzidos em pequena escala, por sua vez, o *Aspergillus candidus* era mais comum nas produções em grande escala.

A presença de bolores na superfície de salames pode conduzir a efeitos desejáveis e indesejáveis. Os efeitos procurados são: o sabor típico mediado por oxidação do lactato, proteólise, degradação de aminoácidos, lipólise, (GRAZIA *et al.*, 1986; LEISTNER, 1984; LUCKE, 1998), proteção contra colonizações espontâneas de mofos não desejáveis e bactérias (LUCKE e HECHELMANN, 1987), o retardamento da rancificação e estabilização da cor por atividade de catalases, consumo de oxigênio e proteção contra luz (BACUS, 1986; BRUNA *et al.*, 2001; LUCKE e HECHELMANN, 1987), reduzir o risco de desenvolvimento de uma extremidade seca, perda de água uniforme devido à evaporação de água mais lenta (LUCKE, 1998) e facilidade na retirada da tripa (GRAZIA *et al.*, 1986).

Os efeitos negativos normalmente são ligados ao crescimento de bolores indesejáveis. O principal efeito desse grupo é a produção de metabólitos secundários altamente tóxicos, micotoxinas que além dos efeitos tóxicos agudos, também são carcinogênicos e podem provocar efeitos degenerativos no fígado (SAMSON *et al.*, 1995).

A cobertura com bolores deve ser uniforme, esbranquiçada ou acinzentada, e isenta de manchas esverdeadas, marrons ou negras. Os bolores brancos ou cinza são, principalmente, representantes do gênero *Penicillium* e, algumas vezes de *Scopulariopsis*. Os bolores verdes são também *Penicillium* ou *Aspergillus*. As manchas marrons ou pretas são causadas por *Cladosporium*, *Alternaria* ou *Aspergillus* (LEISTNER e AYRES *apud* CASTRO, 2000).

O crescimento de bolores desejáveis previne o desenvolvimento de bolores indesejáveis e os efeitos adversos do oxigênio (oxidação e descoloração) e permite uma secagem mais uniforme (CASTRO *et al.*, 2000).

Tem-se demonstrado que a maior parte dos microrganismos se multiplicam melhor com valores de pH em torno de 7,0 (6,6 a 7,5), enquanto somente alguns crescem em um pH abaixo de 4,0. Os bolores crescem em um pH mínimo de 1,5-2,0 e máximo de 11, já as leveduras pH mínimo 2,5 e máximo 8,0 - 8,5 (JAY, 1973).

O que determina se ocorrerá ou não o crescimento dos microrganismos é a quantidade de água “disponível” e não a água total (HAYES, 1993). A necessidade dos microrganismos pela água é expresso em termos de atividade de água (A_w) do meio ambiente (JAY, 1973).

Os bolores toleram valores de A_w menores que as bactérias, muitas espécies de bolores crescem com A_w de 0,75 a 0,70. As leveduras, quanto as suas necessidades de água, ocupam um lugar intermediário entre bactérias e os bolores, sendo a A_w limite para a maioria de 0,9 aproximadamente (HAYES, 1993).

Jay (1973), destaca que os valores específicos de A_w são considerados unicamente como pontos de referência, já que a variação da temperatura ou quantidade de elementos nutritivos podem permitir o crescimento dos microrganismos em valores inferiores de A_w .

Bolores indesejáveis presentes em produtos curados pertencem principalmente à espécies do gênero *Penicillium* e *Aspergillus*. Estes bolores são potenciais produtores de micotoxinas, entre elas, ocratoxina A, patulinas, roquerfortina e peniciliana. *Aspergillus flavus* produz aflatoxina e ácido ciclopiazônico.

De acordo com Ostrý (2001), a produção de micotoxinas é favorecida pelos seguintes fatores: presença de O_2 , temperatura entre 4 e 40°C, pH entre 2,5 e 8, A_w mínima de 0,8 e concentração máxima de NaCl de 14%

Em geral, as condições durante a produção de produtos cárneos curados (temperatura, umidade relativa, velocidade de circulação do ar) são favoráveis ao desenvolvimento de bolores. As principais causas do crescimento de bolores incluem falhas nas etapas de secagem, resultando em alta taxa de umidade na superfície dos produtos, além de condições inadequadas nas câmaras de maturação. Nesses casos, os esporos podem germinar e bolores potencialmente toxigênicos podem produzir micotoxinas, colocando em perigo a saúde do consumidor (MIZAKOVA *et al*, 2002).

Algumas espécies de *Penicillium* (*P. stoloniferum*) têm sido identificadas como causadoras de escurecimento em peças de salame (DRAGONI *et. al*, 1986). Como a microbiota natural das câmaras de maturação de salames é formada predominantemente de espécies de *Penicillium*, vem sendo estudada, a capacidade destas espécies produzirem micotoxinas (ANDERSEN, 1998). Considerando-se que cerca de 70-80% dos penicilios são

produtores potenciais de micotoxinas (LEISTNER & PITT apud CASTRO, 2000), é de se esperar que, com frequência, sejam encontradas cepas de penicilios toxigênicos em salames.

Os bolores indesejados encontrados em salames e salas de maturação de diversas empresas do sul do país são relacionados de acordo com a Tabela 1. Embora, a capacidade toxigênica dos isolados não tenha sido testada, sabe-se que entre estes, o *Aspergillus ochraceus* apresenta potencial toxigênico, sendo capaz de produzir ocratoxina (CASTRO *et. al.*, 2000).

Tabela 1- Fungos filamentosos de maior frequência, isolados de embutidos secos e do ar circulante em câmaras de maturação de fábricas de salames.

Isolados	Ocorrência em salames	Ocorrência no ar circulante
<i>Penicillium janthinellum</i>	+	+
<i>Penicillium decumbens</i>	+	+
<i>Penicillium spp</i>	+	+
<i>Aspergillus ochraceus</i>	+	+
<i>Aspergillus flavipes</i>	+	+
<i>Eupenicillium spp</i>	+	+

2.4 Natamicina

A natamicina foi descoberta em 1955 numa filtração de culturas de bactérias *Streptomyces natalensis*. Este microorganismo foi isolado da soja na província de Natal, no Sul da África, sendo que o nome é derivado dessa região. A natamicina tem forma cristalina, sua fórmula empírica é $C_{33}H_{47}NO_{13}$ e sua estrutura foi determinada em 1958.

A natamicina atua combinando-se com o ergosterol e o 24 e 28-dehidroergosterol além do colesterol. Esses componentes estão presentes nas membranas das células de bolores e leveduras mas não se encontram nas bactérias, sendo assim, a natamicina não tem efeito nenhum sobre as bactérias (OBREGON, 2004).

A natamicina (antibiótico com princípio ativo pimaricina), é um grande e potente inibidor de bolores e leveduras. Seu uso tem sido recomendado em alguns alimentos sólidos, onde a casca ou a película envolvente não é ingerida, como é o caso de queijos duros e embutidos cárneos (TORRES, 1997).

A pimaricina trata-se de antibiótico produzido por *Streptomyces natalensis*, estável na faixa de pH 4,5 a 6,5, inativo contra bactérias, mas com um grande potencial fungicida (FURTADO, 1991).

É um antibiótico natural produzido pela fermentação realizada com *Streptomyces natalensis* utilizado em pó com 50% de natamicina ativa. Seu mecanismo de ação é se conectar no interior da membrana celular do bolor para produzir uma mudança de permeabilidade da mesma, o que provoca a perda de materiais celulares essenciais. A natamicina é efetiva contra uma extensa lista de cepas de bolores e leveduras, melhorando a aparência estética e a vida de prateleira dos alimentos. Reduz o risco de produção de micotoxinas não afetando a aparência, sabor, aroma e cor dos alimentos, não interfere na atividade desejada de culturas em produtos fermentados. Os microrganismos indesejados não desenvolvem resistência frente ao composto e é muito mais efetiva que os conservantes químicos em mínimas concentrações. Pode ser utilizada em: queijos (aplicação em superfície em uma solução), produtos cárneos (podem ser tratados com solução em spray), e bebidas como sucos de frutas (OBREGÓN, 2004).

De acordo com a Resolução nº 28 da Anvisa (BRASIL, 2001) é permitido o uso da natamicina (Pimaricina) (INS 235), como conservador, para tratamento de superfícies de produtos cárneos embutidos no limite máximo de 1mg/dm², ausente em 5mm de profundidade.

2.5. Qualidade sensorial

A análise sensorial foi desenvolvida durante a Segunda Guerra Mundial, em razão de que tropas rejeitavam um grande volume de ração, que estava balanceada e cumpria as necessidades nutricionais. Para descobrir o motivo da rejeição, foram realizadas entrevistas que permitiram concluir que a mesma era em função da deterioração, que alterou as características e a qualidade do produto (BORTOLUZZI, 1996).

No Brasil, a análise sensorial iniciou em 1954 com a necessidade de classificar bebidas de café. A análise sensorial serve para mostrar, medir e interpretar reações das características de alimentos e outros materiais, quando são percebidos pelos sentidos de visão, olfato, gosto e audição (BORTOLUZZI, 1996).

Para a indústria de alimentos, a análise sensorial é um campo muito importante, contribuindo para a determinação da qualidade e aceitação de um produto novo (MORAES,

1993). As análises microbiológicas, químicas e físicas dos alimentos fornecem dados que podem ser correlacionados com muitas propriedades sensoriais. Entretanto, o julgamento final da qualidade só pode ser feito através dos testes sensoriais, que envolvem principalmente o sabor e o aroma (PANETTA, 1992). A compra e rejeição dos produtos são iniciadas pela aparência (cor) e textura respectivamente, porém o *flavor* é a característica que convence o consumidor a comprar o produto novamente (VERPLAETSE, 1994).

O *flavor* é uma complexa reação sensorial que envolve o sabor, cheiro (odor) e a textura do produto. O odor ou aroma é de longe o componente mais importante, dada a elevada sensibilidade dos receptores nasais para numerosos componentes voláteis, liberados durante a mastigação e a ingestão (SCHMIDT & BERGER, 1998).

2.6. Aplicação da Natamicina na Indústria

A natamicina vem sendo muito utilizada para o controle de bolores e leveduras na superfície de queijos em inúmeros laticínios no Brasil.

Esse composto é aplicado no queijo na forma de solução aquosa (de 0,1 a 0,2%) na qual se mergulham os queijos logo após a salmoura. O tratamento pode ser eventualmente repetido após três ou quatro semanas. É tão potente que tem sido usado para impedir a proliferação de bolores e leveduras indesejáveis na casca queijos maturados internamente por mofos, como o Gorgonzola. É legalmente autorizado para o uso no Mercosul (FURTADO, 2005).

Pretendemos neste trabalho utilizar a natamicina para o controle de bolores e leveduras em salame tipo Italiano em salas de maturação de madeira.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Tratamentos utilizados

Foi utilizada, neste trabalho, a massa industrial de salame tipo Italiano, de uma grande empresa localizada em Chapecó-SC, produzida com matéria prima dianteira suína e toucinho suíno. O salame recebeu em sua formulação nitrato, nitrito, sal, condimentos, eritorbato de sódio, cultura starter *Staphylococcus carnosus* e *Lactobacillus pentosus* (Combi start do fornecedor Chr Hansen).

As carnes foram moídas em moedor com disco de 8 mm e o toucinho foi cortado em cubos de aproximadamente 8mm. Após essa etapa seguiram para a misturadeira, onde foram adicionados os demais ingredientes às carnes e misturou-se até formar uma massa homogênea.

O salame tipo Italiano foi embutido à temperatura em torno de 4 °C, com tripa de colágeno não comestível no calibre 70 mm. Antes de embutir o produto, a tripa de colágeno foi hidratada em solução de água e sal (10%). Este procedimento se faz necessário para que a tripa fique mais elástica e resista à pressão do embutimento evitando a ocorrência de rompimento do material.

Na solução em que a tripa é colocada para sua hidratação foi adicionada a natamicina (exceto no tratamento 4) . A Natamicina utilizada foi de caráter comercial chamada de Natamax (DANISCO), com aparência de um pó branco composto de 50% de lactose e 50% de natamicina em sua composição. Os tratamentos feitos foram:

Padrão: Sem Natamicina, identificada como Padrão (P)

Tratamento 1: Hidratada com 0,1% de solução de Natamicina, identificada como T1.

Tratamento 2: Hidratada com 0,05% de solução de Natamicina, identificada como T2.

Tratamento 3: Hidratada com 0,025% de solução de Natamicina, identificada como T3.

Tratamento 4: Neste foi aspergida uma solução a 0,1% de natamicina no fumeiro, momentos antes de iniciar a defumação do produto, identificada como T4.

Essas concentrações foram utilizadas com base no que vem sendo utilizado em laticínios. No entanto, como a natamicina possui alto custo, vamos utilizar concentrações ainda menores.

A Figura 1 demonstra a forma em que as tripas foram hidratadas antes de serem embutidas.

Após o tratamento com natamicina as amostras seguiram para o fumeiro onde foram defumados e após cerca de 29 horas seguiram para a sala de maturação. Monitorou-se a temperatura e umidade no processo de defumação no fumeiro.



Figura 1 - Hidratação em caixa plástica da tripa de Colágeno calibre 70 mm antes de ser embutida.

Após a defumação os produtos seguiram para as salas de maturação, onde se controlou a temperatura e umidade do ambiente duas vezes ao dia, sempre no mesmo horário. As salas de maturação são, em grande parte, construídas em madeira possuindo um sistema bastante antigo de resfriamento, o que impede de se ter uma velocidade homogênea do ar em todos os locais

desta sala. Foram realizadas análises microbiológicas, físico-químicas e sensoriais. Para facilitar a observação do crescimento dos bolores, foram fotografadas semanalmente as amostras na sala de maturação.

3.2 Análises físico-químicas

3.2.1 Umidade

A umidade foi determinada no dia 0 (antes de entrar no fumeiro) e aos 28 dias seguindo-se a Instrução Normativa N.20/1999, do Ministério da Agricultura e Abastecimento – MAPA (BRASIL, 1999).

3.2.2 Determinação do pH

O pH foi determinado nos dias 0 (da massa), 7, 14, 21 e 28. Os valores de pH foram determinados utilizando-se um pHmetro com sensor de penetração.

3.2.3 Determinação da Atividade de Água (A_w)

A atividade de água foi determinada utilizando o aparelho Aqualab série 3, nos dias: 0, 7, 14, 21 e 28. Cortaram-se e retiraram-se as tripas que foram descartadas. Logo após, as peças foram cortadas e trituradas em liquidificador industrial antes de serem colocadas nos reservatórios do aparelho Aqualab para a leitura da A_w .

3.2.4 Determinação de proteínas e de lipídios

A determinação das proteínas e de lipídios foi realizada no dia 0 e no 28º dia.

Para a análise de proteínas foi seguida a Instrução Normativa nº20/1999 que estabelece os métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes (BRASIL, 1999). O método baseia-se na transformação do nitrogênio da amostra em sulfato de amônio através da digestão com ácido sulfúrico P.A. e posterior destilação com liberação da amônia, que é fixada em solução ácida e titulada. Podem-se expressar os resultados em protídeos, multiplicando-se a porcentagem do nitrogênio total por fatores específicos.

Já para a análise de Lipídeos, foi seguido o Método B (butirômetro) da Instrução Normativa nº20/1999 que estabelece os métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes (BRASIL, 1999). O método fundamenta-se no ataque seletivo da matéria orgânica por meio de ácido sulfúrico, com exceção dos lipídeos, que são separados por centrifugação, auxiliados pelo álcool isoamílico que modifica a tensão superficial.

3.3 Análises microbiológicas

3.3.1 Contagem de Bolores e Leveduras

Para verificar o crescimento dos fungos utilizou-se a técnica de swab. O procedimento consistiu na passagem do swab umedecido comercial (3M) em solução diluente numa área delimitada de 1cm^2 do salame. Colocava-se um delimitador plástico de 1cm^2 sobre a maior quantidade de bolores aparentes em cada peça. Quando a peça estava coberta de bolores, procurava-se colocar o delimitador na área em que a cobertura era mais espessa. Foram feitas três amostragens de 1cm^2 em 3 peças diferentes de cada tratamento.

Em cada análise utilizou-se três peças de salame. Os swabs foram transferidos para placa Petrifilm para contagem de bolores e leveduras (YM) que é um sistema pronto de meio de cultura que contém nutrientes, suplementados com antibióticos, um agente geleificante solúvel em água fria e um indicador que facilita a enumeração das colônias. Essas placas foram colocadas em uma superfície plana e levantou-se o filme superior da placa, derramando cuidadosamente o conteúdo do tubo do swab (esta foi a diluição 10^0) no centro do filme inferior. Para esse método foi seguido à instrução normativa nº 62, de 26/08/03 – Métodos

Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água - Ministério da Agricultura e do Abastecimento – MAPA, Brasil e as instruções de uso das placas para contagem de leveduras e bolores – Petrifilm – 3M (BRASIL, 2003).

Essas análises foram realizadas com 0 (antes do fumeiro), 7, 14, 21 e 28 dias para todas as amostras.

3.4 Avaliação sensorial

Para verificar a diferenças dos salames tipo Italiano elaborados com natamicina foi realizada a avaliação sensorial dos produtos. As amostras dos salames fabricados foram apresentadas em fatias finas à uma equipe de provadores treinados, que avaliaram atributos de sabor, aroma, coloração e textura. Para realização desta análise foi utilizado o teste de comparação múltipla ou diferença do controle (anexo A).

O teste de comparação múltipla ou diferença do controle é usado quando se deseja saber em um só tempo se existe diferença significativa entre vários tratamentos (amostras) e uma referência ou tratamento padrão e estimar o grau dessa diferença, ou seja, se é uma diferença grande ou pequena (DUTCOSKI, 1996).

Foram avaliados os salames quanto ao sabor, aroma, textura e cor nas cabines de análise sensorial com quinze degustadores treinados pela empresa onde realizou-se todo o trabalho . A avaliação sensorial foi realizada através do teste de comparação múltipla ou teste de diferença do controle (ABNT – NBR 13526, 1995). Sendo que os quinze provadores treinados receberam uma amostra controle ou padrão e outras quatro amostras para serem avaliadas. A ficha aplicada para o atributo sabor encontra-se no anexo. A mesma ficha foi também aplicada para aroma, cor e textura.

Os resultados foram avaliados pela análise de variância a um nível de significância de 5%. Quando necessário aplicou-se o teste de Tukey para verificar a existência de diferença entre as médias dos tratamentos, considerando nível de significância de 5%.

3.5 Análise estatística

As análises físico químicas foram realizadas em triplicata. Os resultados foram analisados estatisticamente através de cálculos de média, desvio padrão, análise de variância e teste de Tukey com significância ao nível de 5% ($p < 0,05$), utilizando o *software* STATISTICA versão 6.1 (Statsoft Inc, USA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Temperatura e umidade no fumeiro durante a defumação e maturação

Antes de o produto ir para a sala de maturação, este passa pelo processo de defumação em um fumeiro. Durante esse processo foram monitoradas a temperatura e a umidade apresentados na Figura 2.

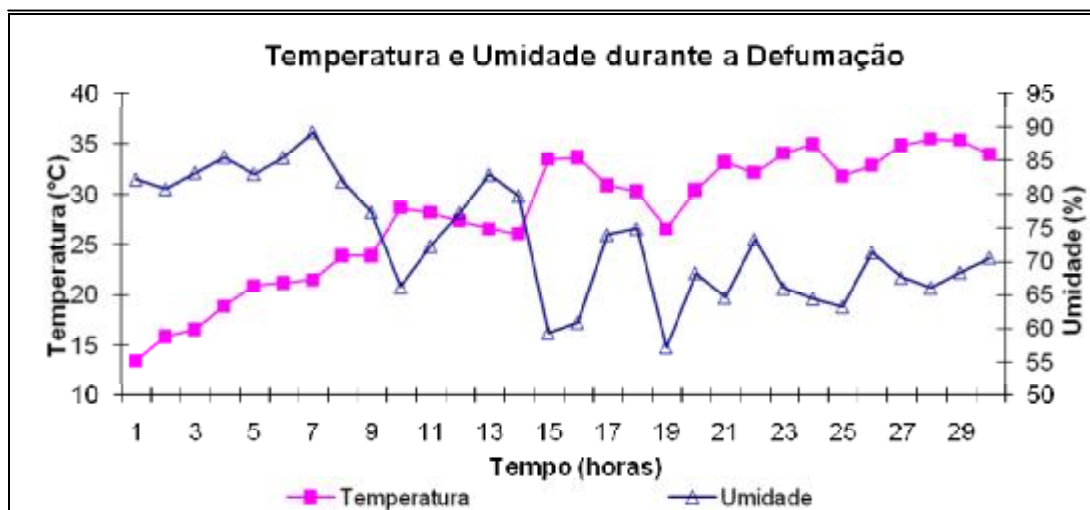


Figura 2 - Temperatura e Umidade durante o processo de defumação em Fumeiro.

Os starters utilizados na massa do salame tipo Italiano são uma mistura liofilizada de dois microorganismos com nome comercial de Combi-start do fornecedor Chr Hansen.

Esse produto é hidratado com água e misturado na massa durante a colocação dos demais ingredientes. Os microorganismos utilizados como starter são o *Staphylococcus carnosus* e o *Lactobacillus pentosus*. O *Staphylococcus carnosus* tem uma temperatura ótima para seu desenvolvimento de 30°C, uma temperatura mínima de desenvolvimento de 10°C e uma temperatura máxima de 45°C. Já *Lactobacillus pentosus* tem uma temperatura ótima para seu desenvolvimento de 35°C, uma temperatura mínima de 15°C e uma temperatura máxima de 40°C. Portanto, a Temperatura de defumação não prejudicou a multiplicação dos microorganismos Starters, tanto que houve uma redução de pH normal em todas as amostras.

Durante toda a maturação do produto na sala de cura foram monitoradas a temperatura e a umidade duas vezes ao dia, sempre nos horários das 4 e 16 horas. Abaixo segue o gráfico com o monitoramento.

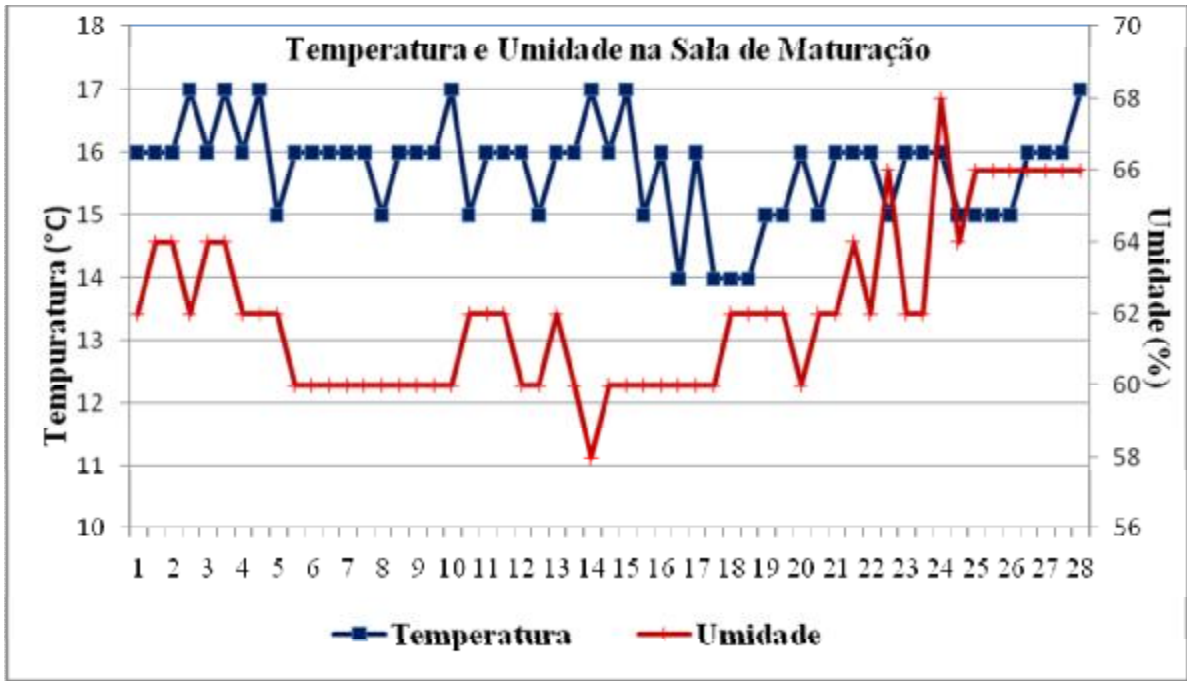


Figura 3 - Temperatura e Umidade na sala de Maturação de Madeira.

A temperatura durante os 28 dias de maturação variou de 14 a 17°C, já a umidade na sala de maturação variou 58 a 68%. Os resultados são ligeiramente diferentes dos que são recomendados por (TERRA *et al.*, 2006) em que cita que a maturação, acontece em salas de cura com temperatura entre 12 a 18°C e umidade relativa de 75 a 85%.

Ayres *et al.* (1974), observou que a formação de micotoxinas em produtos desidratados sobre condições controladas não ocorrem quando os produtos são mantidos a temperaturas inferiores a 15°C. Como a temperatura variou de 14 a 17°C, existiu na sala de maturação a condição para a formação de micotoxinas.

4.2 Análises físico-químicas

4.2.1 pH

A redução do pH é responsável pela liberação de água do produto fermentado, pela troca do estado sol para gel pela proteínas miofibrilares, conferindo textura característica deste produto, além de interferir no potencial de membrana dos microrganismos deteriorantes e patogênicos e reduzir a quantidade de água livre para suas reações bioquímicas (BRANEN & DAVIDSON, 1983).

Os valores do pH após a preparação da massa e durante a maturação são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Valores de pH na parte interna do Salame Tipo Italiano contendo diferentes concentrações de natamicina durante o período de 28 dias dentro da câmara de maturação de madeira.

Amostras	0 dia	7 ^o dia	14 ^o dia	21 ^o dia	28 ^o dia
Padrão	6,10 ^{aA} ± 0,03	4,90 ^{aB} ± 0,06	4,99 ^{aB,D} ± 0,02	5,13 ^{a,bC} ± 0,005	5,04 ^{aD,C} ± 0,03
T1(0,1%)	6,09 ^{aA} ± 0,07	4,93 ^{aB} ± 0,03	4,97 ^{aB} ± 0,02	5,15 ^{aC} ± 0,001	5,01 ^{Ab} ± 0,03
T2(0,05%)	6,10 ^{aA} ± 0,03	4,89 ^{aB} ± 0,04	4,96 ^{aB,D} ± 0,03	5,12 ^{bC} ± 0,01	4,99 ^{aD} ± 0,01
T3(0,025%)	6,11 ^{aA} ± 0,03	4,94 ^{aB} ± 0,01	4,99 ^{aB,C} ± 0,02	5,12 ^{bD} ± 0,01	5,00 ^{aC} ± 0,01
T4(0,1%)*	6,12 ^{aA} ± 0,01	4,93 ^{aB} ± 0,03	5,02 ^{aC} ± 0,04	5,12 ^{bD} ± 0,01	4,98 ^{aB,C} ± 0,01

*Natamicina Aspergida na superfície das peças

NOTA: médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), sendo comparadas letras minúsculas em colunas e maiúsculas em linhas. Padrão: sem natamicina.

Pode-se observar que no pH inicial não havia diferença estatística significativa para todas as amostras no dia de preparação (0 dia), os valores para todas as amostras foram muito próximos. Observa-se uma queda acentuada do pH do início até o sétimo dia. O menor valor de pH é observado no sétimo dia (não houve diferença significativa no 7^o dia) em que variou de 4,89 para a amostra tratada com natamicina a 0,05% a 4,94 para a amostra tratada com 0,025%. Essa queda ocorreu fundamentalmente devido ao acúmulo de ácido lático, formado pela ação das bactérias ácido lácticas sobre os carboidratos presentes na massa cárnea (TERRA, 1998). A queda do pH durante os primeiros dias de fermentação é muito importante para a produção de salames devido à inibição de microrganismos indesejáveis, conversão e estabilidade da cor e formação de compostos desejáveis de sabor e aroma, com isso consegue-se um produto seguro por dificultar a multiplicação de bactérias patogênicas e de boa qualidade visual por apresentar uma cor atraente.

Após o sétimo dia nota-se um leve aumento nos valores de pH no 14º e 21º dias. Isso ocorre devido à produção de amônia e de amins biogênicas como resultado da atividade enzimática (LÜCKE, 1998).

Pelos resultados apresentados na Tabela 2, pode-se notar que a natamicina não interferiu nos resultados de pH das amostras, tanto que no 28º dia, o resultado final de pH de todas as amostras foram muito próximos, não apresentando diferença estatisticamente significativa. Isso demonstra que a natamicina não interferiu na atuação dos starters que foram adicionados na massa comprovando assim que realmente a natamicina não tem ação sobre as bactérias.

Com os resultados encontrados de pH, pode-se dizer que existe condição favorável a produção de micotoxinas durante todo o processo em todas as amostras, já que o pH ficou entre 2,5 e 8 (OSTRYÝ, 2001).

4.2.2 Atividade de água (Aw)

Os resultados de atividade de água após a preparação da massa e durante a maturação na sala maturação são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Valores de Aw na parte interna do Salame Tipo Italiano tratados com diferentes concentrações de natamicina durante o período de 28 dias dentro da câmara de maturação.

Amostras	0 dia	7º dia	14º dia	21º dia	28º dia
Padrão	0,969 ^{b,cA} ±0,002	0,961 ^{bA} ±0,003	0,946 ^{a,bB} ±0,003	0,932 ^{aC} ±0,007	0,911 ^{a,bD} ±0,003
T1(0,1%)	0,975 ^{a,b,cA} ±0,007	0,961 ^{bB} ±0,005	0,948 ^{a,bB} ±0,003	0,928 ^{aC} ±0,006	0,906 ^{b,cD} ±0,003
T2(0,05%)	0,988 ^{aA} ±0,010	0,957 ^{bB} ±0,001	0,943 ^{bB} ±0,004	0,926 ^{aC} ±0,003	0,914 ^{aC} ±0,003
T3(0,025%)	0,981 ^{a,b,cA} ±0,005	0,966 ^{a,bB} ±0,005	0,953 ^{aC} ±0,000	0,930 ^{aD} ±0,005	0,904 ^{cE} ±0,0006
T4(0,1%)*	0,982 ^{a,b,cA} ±0,008	0,975 ^{aA} ±0,002	0,948 ^{a,bB} ±0,003	0,929 ^{aC} ±0,002	0,900 ^{cD} ±0,002

*Natamicina Aspergida na superfície das peças

NOTA: médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05), sendo comparadas letras minúsculas em colunas e maiúsculas em linhas. Padrão: sem natamicina.

A atividade de água diminuiu nas cinco amostras de salames durante o processamento, variando de 0,988 (0,05%) a 0,969 (controle) no dia 0 a 0,914 (0,05%) e 0,900 (0,1% aspergido) no final do processamento (vigésimo oitavo dia).

Esta redução pode ser atribuída ao decréscimo dos valores de pH, pois a capacidade de retenção de água das proteínas é diminuída quando o pH se aproxima do seu ponto isoelétrico, acelerando a desidratação e conseqüentemente reduzindo o pH (CHASCO *et al.*, apud GAIO, 2008). Outro fator que também auxiliou para a redução da atividade de água foi a umidade relativa da sala que variou de 58 a 68% durante os 28 dias em sala de cura, contribuindo dessa forma para a desidratação do produto e conseqüentemente na redução da atividade de água.

A atividade de água indica a quantidade de água livre contida em um alimento, a qual constitui um meio que possibilita a reprodução, transferência e contaminação microbiológica. A atividade de água mede o potencial de biodegradação dos materiais, que é o responsável pelas alterações de cor, odor, sabor, textura e *shelf-life* de um produto alimentício (RODRIGUES, 1998).

O principal fator na estabilidade de um alimento não é, portanto, o seu teor de umidade, mas sim a disponibilidade de água para o crescimento microbiano e o desenvolvimento de reações químicas. Conceitualmente, o termo atividade de água tem sido utilizado por pesquisadores e cientistas da área de alimentos para quantificar esta disponibilidade de água (COULTATE, 2002).

No vigésimo oitavo dia os valores de atividade de água encontrados em quatro das cinco amostras de salames elaborados foram superiores ao valor máximo, determinado pela legislação, que é de 0,90 (BRASIL, 2000). A única que atingiu 0,90 foi a amostra tratada com 0,1% de natamicina aspergida.

Em escala normal de produção o tempo mínimo para o produto sair da sala de maturação para ser embalado é de trinta dias, isso para garantir que a atividade de água seja inferior a 0,90.

Os valores encontrados neste experimento demonstram que a atividade de água está acima de 0,88, o que não traz prejuízos para a textura do produto (TERRA, 1998).

Os resultados apresentados demonstram que a atividade de água durante todo o processo favorece a produção de micotoxinas, já que ficou acima da atividade de água mínima que é de 0,80 para inibir a produção (OSTRÝ, 2001).

4.2.3 Umidade

Os valores relativos à umidade no dia 0 e no vigésimo oitavo dia do salame tipo Italiano são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4 – Valores de Umidade (%) do Salame Tipo Italiano tratados com diferentes concentrações de natamicina durante o período de 28 dias dentro da câmara de maturação.

Amostras	0 dia	28^o dia
Padrão	61,36 ^{aA} ± 0,16	42,01 ^{d,e B} ± 0,76
T1(0,1%)	60,90 ^{aA} ± 0,46	41,18 ^{eB} ± 0,42
T2(0,05%)	60,79 ^{aA} ± 0,42	39,52 ^{c,e B} ± 1,55
T3(0,025%)	61,38 ^{aA} ± 0,81	43,28 ^{a,e B} ± 0,63
T4(0,1%)*	58,67 ^{bA} ± 0,62	39,71 ^{b,e B} ± 0,68

*Natamicina Aspergida na superfície das peças

NOTA: médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), sendo comparadas letras minúsculas em colunas e maiúsculas em linhas. Padrão: sem natamicina.

Pode se verificar que ocorreu a diminuição dos valores de umidade entre o início e o final do processo. Isso se explica devido à desidratação do produto durante a maturação. O salame tem uma queda no pH, aproximando-se do ponto isoelétrico o que faz com que a água saia do produto com facilidade.

Os percentuais iniciais de umidade no dia 0 variaram de 58,67% a 61,38%, demonstrando assim diferença significativa a nível de 5% na amostra T4.

No final do processamento (vinte e oito dias), a umidade apresentou valores entre 39,52% e 43,28%. Isso demonstra que houve diferença significativa a nível de 5%. As amostras T4 e T2 apresentaram os menores valores de umidade, no entanto a amostra T2 teve um desvio padrão maior do que a T4. Com isso, pode-se considerar a T4 com a menor umidade, provavelmente devido ao menor crescimento de bolores em relação às outras amostras, como poderemos observar nas fotos que serão apresentadas posteriormente.

As variações ocorridas entre os tratamentos se devem possivelmente às diferenças na composição da amostragem para análise, decorrente da maior ou menor presença de gordura (toucinho) em cada amostra, ou da localização dos salames dentro da sala de maturação. Salames que estão localizados onde se tem uma maior velocidade de ar, secam mais rápido, reduzindo assim mais a umidade.

No entanto, se a velocidade de ar for muito alta e a temperatura também (principalmente no fumeiro), pode se ter uma desidratação muito rápida apenas superficial, surgindo o que se chama na indústria de “crosta” que forma-se um anel de desidratação de cor mais escura na superfície do produto, o que dificulta a saída de água do interior do produto. Quando isso ocorre o conteúdo de umidade e a atividade de água ficam com valores maiores, levando-se um tempo maior no processo para o salame estar pronto.

De acordo com o regulamento técnico de identidade e qualidade do salame tipo italiano, todas as amostras estariam com umidade acima do permitido que é de no máximo 35%. Esse valor estabelecido pela Legislação Nacional seria desnecessário já que o regulamento técnico já prevê uma atividade de água máxima de 0,90.

A atividade de água indica a água livre e conseqüentemente é ela que garante a segurança alimentar e não o conteúdo de umidade. O teor máximo de 35% de umidade estabelecida pela legislação prejudica a textura do produto, deixando o salame com aspecto bastante firme e ressecado.

Desta forma, este parâmetro necessitaria de uma reavaliação por parte da legislação, pois freqüentemente consegue-se valores de atividade de água inferiores ao estabelecido pela mesma legislação, mas não o teor máximo de umidade. Isso pode também ser observado no estudo feito por Gaio (2008), em que o salame tipo italiano já possuía em todas as amostras com 21 dias atividade de água inferior a 0,90, enquanto a umidade estava em todas as amostras com valores superiores a 39%.

4.2.4 Gordura

Os valores relativos à variação de gordura nas amostras no dia 0 e no vigésimo oitavo dia do salame tipo Italiano são mostrados na Tabela 5.

Tabela 5 – Valores de Gordura (%) do Salame Tipo Italiano tratados com diferentes concentrações de natamicina durante o período de 28 dias dentro da câmara de maturação.

Amostras	0 dia	28 ^o dia
Padrão	11,77 ^{b,c A} ± 0,52	26,18 ^{a,b B} ± 1,31
T1(0,1%)	12,69 ^{b,c A} ± 1,08	27,15 ^{a,b B} ± 2,09
T2(0,05%)	14,02 ^{b A} ± 0,78	29,89 ^{a B} ± 2,12
T3(0,025%)	11,03 ^{c A} ± 1,29	24,83 ^{b B} ± 0,44
T4(0,1%)*	18,38 ^{a A} ± 0,69	28,38 ^{a,b B} ± 2,48

*Natamicina Aspergida na superfície das peças

NOTA: médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05), sendo comparadas letras minúsculas em colunas e maiúsculas em linhas. Padrão: sem natamicina.

Pode-se verificar que houve um aumento nos valores de gordura entre o início e o final do processo. Isso pode ser explicado devido à desidratação do produto durante a maturação aumentando assim a concentração de gorduras e proteínas.

Nota-se também que no dia 0, a gordura variou de 11,03% no tratamento T3 até 18,38% no tratamento T4. Como todas as amostras foram coletadas na mesma massa da misturadeira, essa variação pode ser explicada pela variação da quantidade de toucinho nas peças, já que a distribuição uniforme dos pedaços de toucinho na massa e conseqüentemente nas peças de salames requer muito cuidado, mesmo assim é comum ocorrer diferenças na concentração de pedaços de toucinho.

Já no vigésimo oitavo dia a gordura aumentou, variando entre 24,83% no tratamento T3 a 29,89% no tratamento 2. O tratamento 3 continuou a apresentar o menor valor de gordura. Já o tratamento T4 não apresentou o maior valor, como havia ocorrido na avaliação com dia 0. Isso ocorreu devido ao desvio padrão, que se observado foi o maior desvio padrão apresentado entre todas as amostras no vigésimo oitavo dia ($\pm 2,48$).

4.2.5 Proteínas

Os valores relativos à variação no resultado de proteínas nas amostras no dia 0 e no vigésimo oitavo dia do salame tipo Italiano são mostrados na tabela 6.

Os valores para a proteína nas amostras com o dia 0 variaram de 16,76 encontrada no tratamento T2 a 18,57% encontrado no tratamento T4. Esta variação tem a mesma explicação dada ao teor de umidade e de gordura. Já que a massa era da mesma batelada da misturadeira, essa diferença entre os valores deve ter ocorrido devido à maior ou menor presença de gordura (toucinho) em cada amostra.

Tabela 6 – Valores de Proteínas (%) do Salame Tipo Italiano tratados com diferentes concentrações de natamicina durante o período de 28 dias dentro da câmara de maturação.

Amostras	0 dia	28 ^o dia
Padrão	17,49 ^{a,b A} \pm 0,44	26,34 ^{a B} \pm 0,71
T1(0,1%)	17,12 ^{b A} \pm 0,43	26,61 ^{a B} \pm 0,99
T2(0,05%)	16,76 ^{b A} \pm 0,43	25,84 ^{a B} \pm 1,59
T3(0,025%)	17,39 ^{b A} \pm 0,49	25,62 ^{a B} \pm 0,91
T4(0,1%)*	18,57 ^{a A} \pm 0,35	26,85 ^{a B} \pm 1,04

*Natamicina Aspergida na superfície das peças

NOTA: médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), sendo comparadas letras minúsculas em colunas e maiúsculas em linhas. Padrão: sem natamicina.

Com 28 dias as amostras apresentaram um aumento já esperado nos valores de proteína, devido à desidratação dos salames na sala de maturação. Os valores encontrados para as proteínas em todas as amostras são mais próximos não apresentando diferença significativa entre as amostras. Os resultados das análises de proteína encontrados variaram de 25,62% encontrado para o tratamento T3 a 26,85% encontrado para tratamento T4. Portanto todas as amostras já atendiam o regulamento técnico de identidade e qualidade com 28 dias no que refere-se ao teor de proteína para o salame tipo Italiano o qual deve ser no mínimo de 25% (BRASIL,2000).

4.3 Análises microbiológicas (swabs) e aspecto visual

Os valores relativos à contagem de bolores e leveduras nos swabs nas amostras desde o dia 0 ao 28º dia na superfície do salame tipo Italiano são mostrados na Tabela 7

Tabela 7 – Valores Encontrado nas análises dos Swabs na parte externa do Salame Tipo Italiano contendo diferentes concentrações de natamicina durante o período de 28 dias dentro da câmara de maturação de madeira.

Amostras	0 dia	7^o dia	14^o dia	21^o dia	28^o dia
Padrão	5,00E+02	7,40E+03	1,25E+05	7,50E+06	1,45E+08
T1(0,1%)	3,00E+02	4,80E+02	5,60E+04	1,00E+05	2,50E+05
T2(0,05%)	1,50E+02	3,60E+03	1,60E+05	1,00E+06	4,00E+06
T3(0,025%)	5,50E+01	1,12E+06	3,20E+06	5,50E+06	1,40E+07
T4(0,1%)*	4,50E+01	4,55E+01	2,80E+04	5,50E+04	1,00E+05

*Natamicina Aspergida na superfície das peças

NOTA: Padrão: sem natamicina.

Pode-se notar que no dia 0 não era possível visualizar a presença de colônias. As contagens eram baixas sendo que a maior contagem encontrada foi na amostra padrão com 5,00 E+02. Com 7 dias já conseguia-se observar o aparecimento das primeiras colônias de

bolores de cor branca na amostra padrão e na de tratamento T3, como mostra as flechas de cor amarela na Figura 4.

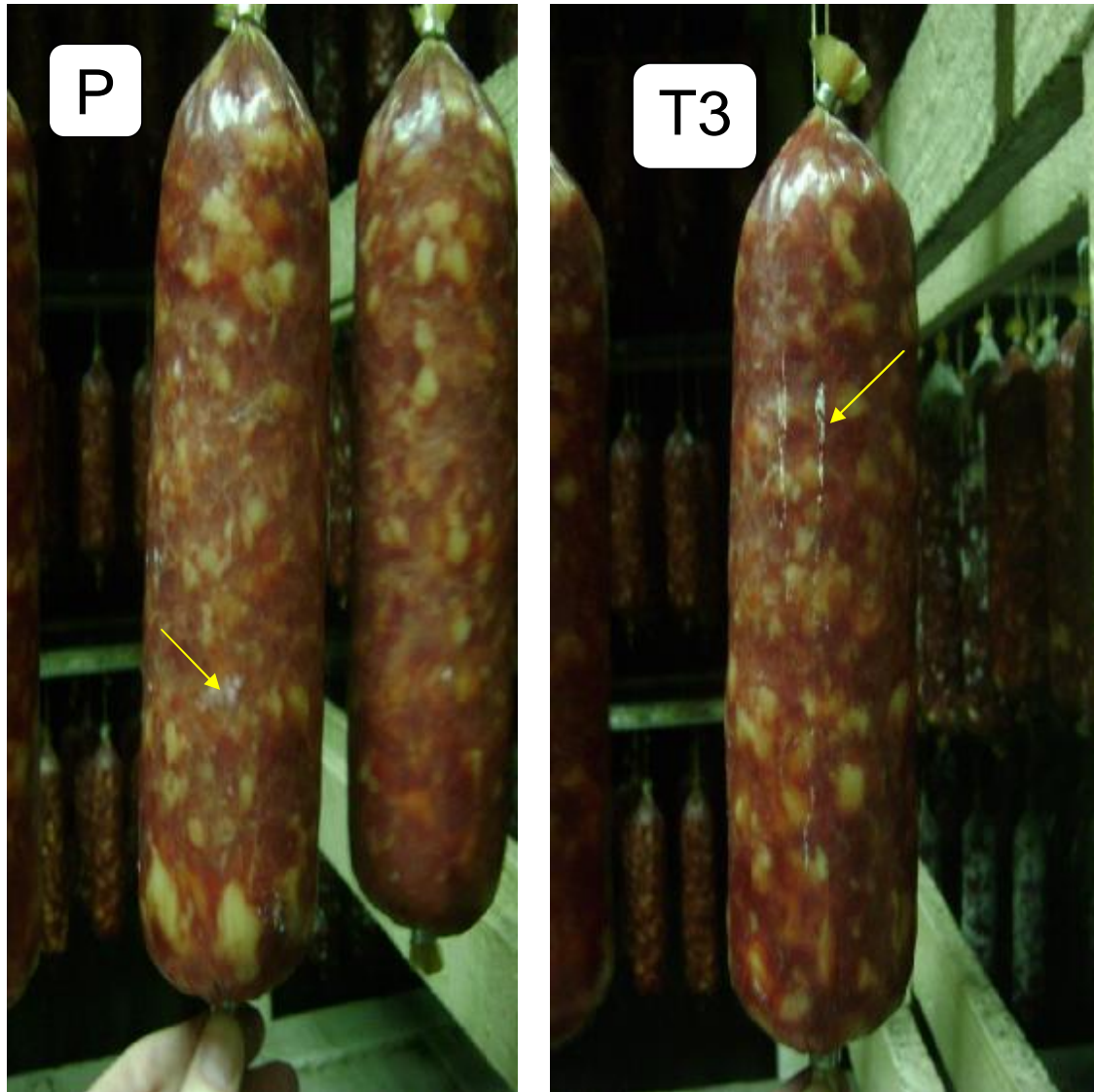


Figura 4 - Peças de salame tipo Italiano com 7 dias de maturação.

A partir do 14º dia nota-se um crescimento grande de bolores brancos, principalmente nas amostras Padrão, T2 e T3. As contagens de bolores em swabs demonstram que houve uma contagem maior na amostra T3 ficando com $3,20E+06$. As amostras padrão e o T2 ficaram com contagem próximas de $1,25E+05$ e $1,60E+05$ respectivamente. Nas amostras tratadas com a natamicina numa concentração de 0,1%, observa-se uma contagem menor ficando em $5,60E+04$ para o T1 e $2,80E+04$ para o T4. As fotos (Figura 5) demonstram claramente um menor crescimento de bolores nas amostras T1 e T4, que foram tratadas com a concentração maior de natamicina.

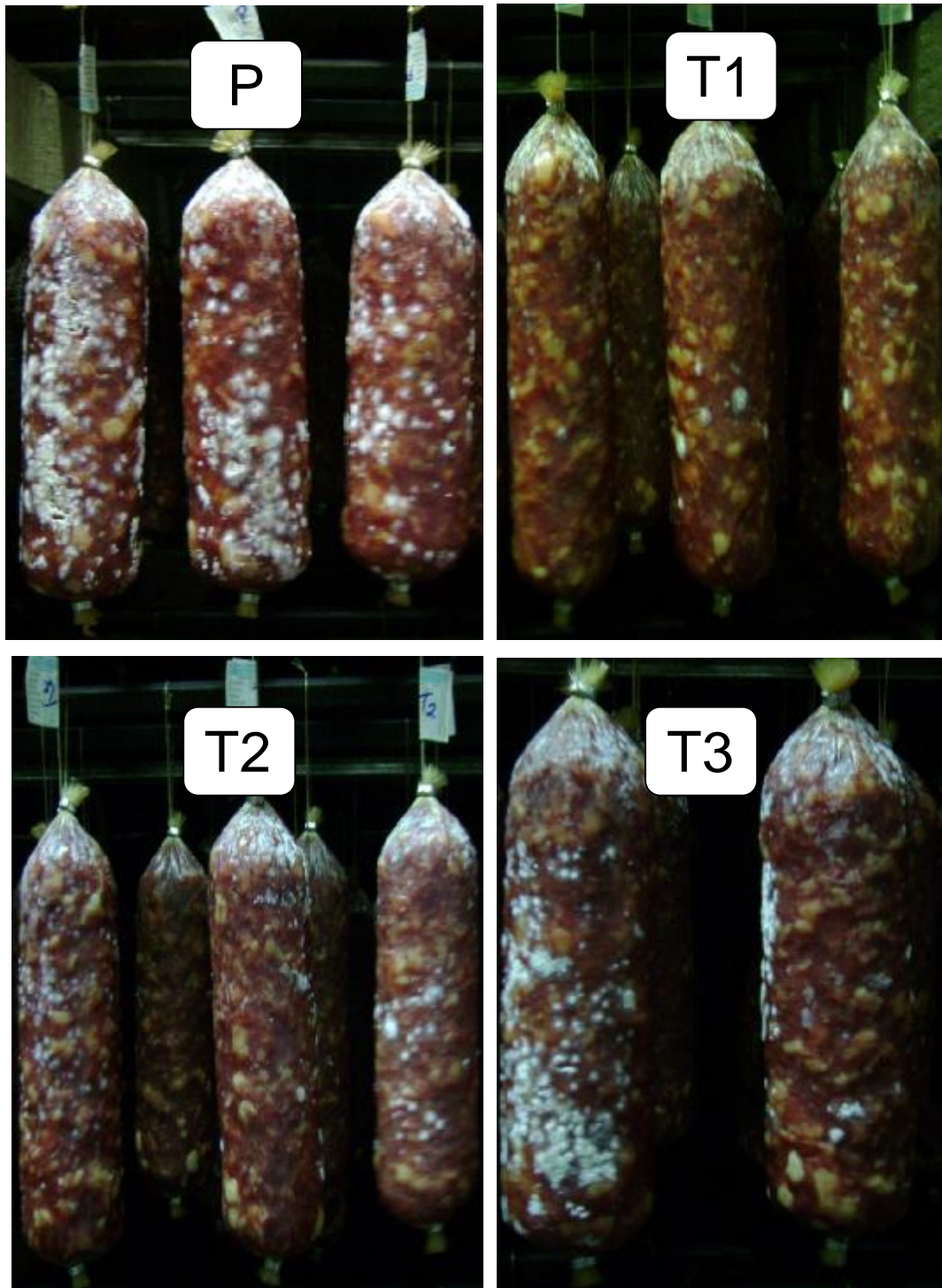


Figura 5 – Peças dos salame tipo Italiano dom 14 dias de maturação.



Figura 5 – Peças dos salame tipo Italiano dom 14 dias de maturação(continuação).

Com 21 dias, a contagem chegou na amostra padrão a $7,50E+06$. Outra mudança é o desenvolvimento de alguns bolores filamentosos de coloração verde, nas amostras Padrão, T2 e T3. Esses bolores são apontados por setas de cor amarelas na figura abaixo. As amostras T1 e T4, ainda continuaram com uma quantidade menor de bolores e leveduras, mesmo que a contagem atingiu $1,00E+05$ e $5,50E+04$ respectivamente conforme demonstra a figura 6 abaixo.

Com 28 dias a contagem atingiu $1,45E+08$ na amostra Padrão, a Figura 7 deixa claro que as amostras do salame tipo italiano Padrão foram totalmente cobertas pelos bolores. Essa contagem confirma os dados encontrados por Castro *et al* (2000), em que encontrou uma contagem após 20 dias na ordem de $1,00 E+08$ para os salames que não foram tratados com inoculação de starter na superfície do salame tipo italiano.

Dos tratamentos que foram aplicadas a natamicina, pode-se notar uma redução na contagem de bolores em relação à amostra Padrão.

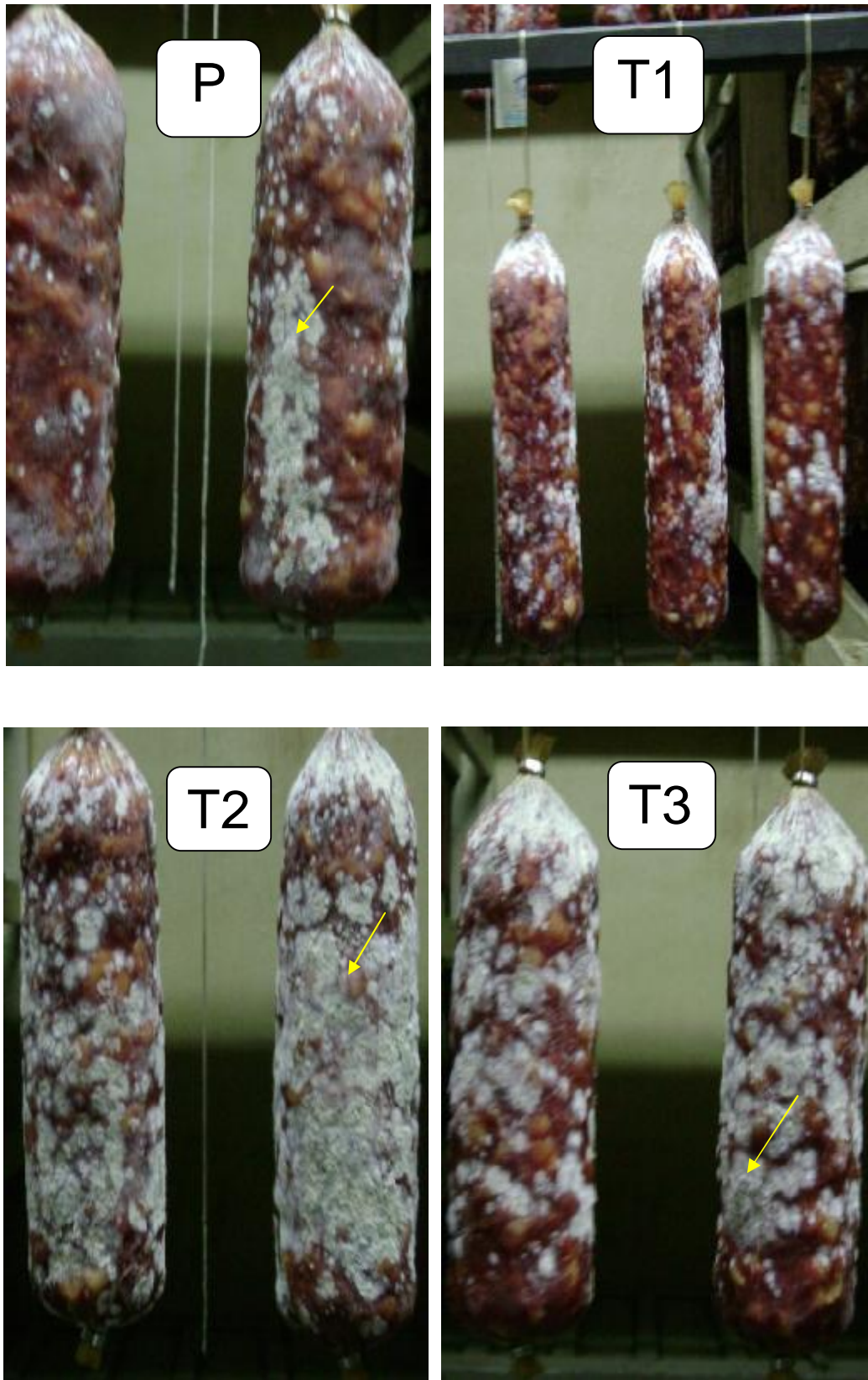


Figura 6 - Peças do salame tipo Italiano com 21 dias em sala de Maturação.



Figura 6 - Peças do salame tipo Italiano com 21 dias em sala de maturação (continuação).

As amostras Padrão, T2 e T3 apresentaram o crescimento de bolores filamentosos de coloração verdes (apontados com flechas amarelas), potencialmente perigosos por poderem produzir toxinas. A cobertura com mofos deve ser uniforme, esbranquiçada ou acinzentada, e isenta de manchas esverdeadas, marrons ou negras. Os mofos brancos ou cinza são, principalmente, representantes do gênero *Penicillium* e, algumas vezes, de *Scopulariopsis*. Os mofos verdes são também *Penicillium* ou *Aspergillus*. As manchas marrons ou pretas são causadas por *Cladosporium*, *Alternaria* ou *Aspergillus* (LEISTNER e AYRES apud CASTRO, 2000).

Além disso, algumas espécies de *Penicillium* (*P. stoloniferum*) têm sido identificadas como causadoras de escurecimento em peças de salame (DRAGONI, I.; CANTONI, C. & SPADA, S apud CASTRO, 2000). Como a microbiota natural das câmaras de maturação de salames é formada predominantemente de espécies de *Penicillium*, vem sendo estudada atualmente, a capacidade destas espécies produzirem micotoxinas (ANDERSEN apud CASTRO, 2000). Considerando-se que cerca de 70-80% dos penicilios são produtores potenciais de micotoxinas (LEISTNER & PITT apud CASTRO, 2000), é de se esperar que, com frequência, sejam encontradas cepas de penicilios toxigênicos em salames.

Fica bem claro através das figuras 7 um menor crescimento nas amostras T1 e T4 que foram tratadas com 0,1% de natamicina, ficando com contagem de 2,50 E+05 e 1,00 E+05

respectivamente. Pode-se notar pelas figuras 7 que a amostra T4 foi a que apresentou o menor crescimento de bolores. Isso também se refletiu nos valores de A_w , já que foi a que apresentou o menor resultado de A_w com 28 dias (0,900). Isso confirma que a natamicina a 0,1% é eficaz contra o crescimento de bolores. Esse resultado confirma os estudos apresentado por (ROCHA, 2004) que avaliou a natamicina para o controle de bolores durante a maturação de queijos Minas padrão avaliando a 0,1% e a 0,05% além de avaliar também o sorbato a 25 e 30%. Nesse estudo também foi verificado a eficácia da natamicina a 0,1% no tratamento contra fungos.

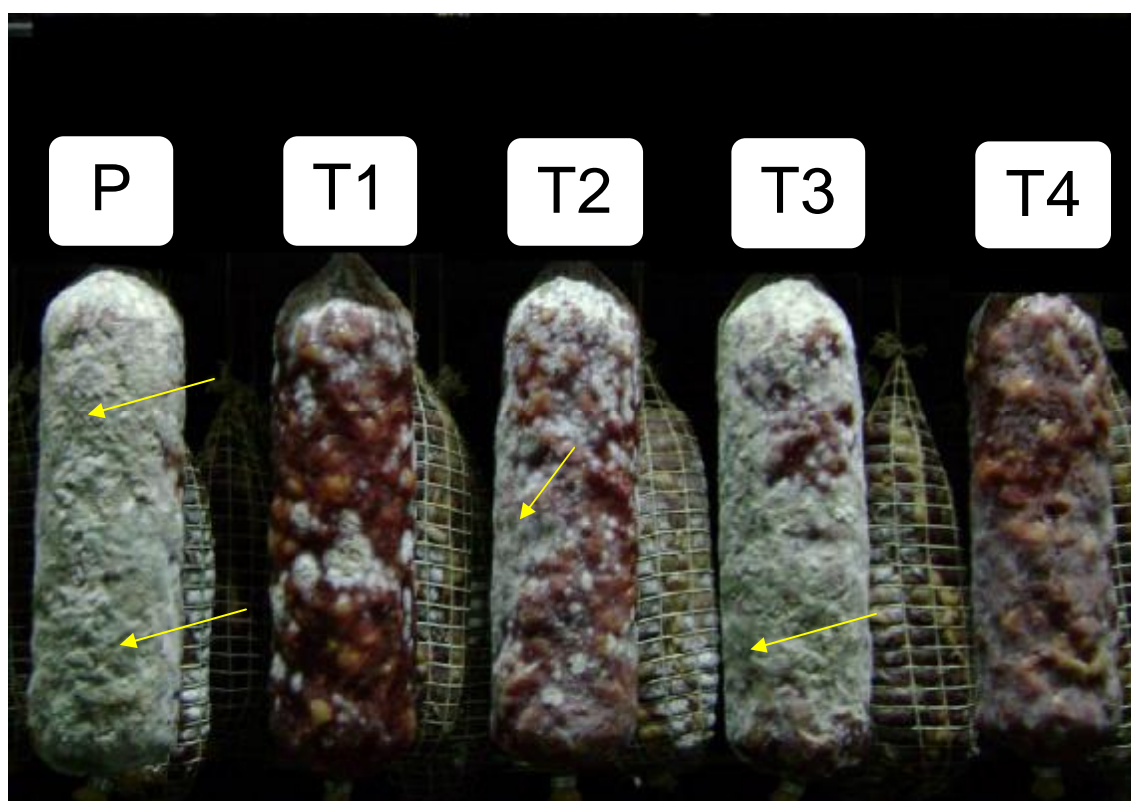


Figura 7 - Fotos comparativas das amostras após 28 dias na sala de maturação.

Para os tratamentos com concentrações menores que 0,1% de natamicina (tratamentos T2 e T3), pode-se notar pelas figuras uma eficácia menor da natamicina. Isso também foi observado por Holley (1981), em seu estudo que demonstrou uma ineficácia da natamicina em salames tipo italiano quando foi aplicada nas tripas também por imersão, porém numa concentração ainda menor de 2ppm (0,000002%). Nesse mesmo trabalho pode-se observar a eficácia da natamicina por aspersão. Quando aspergida uma solução com 1ppm (0,000001%)

de natamicina no dia 0 e após novamente no dia 5 nos salames tipo italiano demonstrou a eficácia no controle bolores.

Como a natamicina atualmente ainda é muito cara, a decisão de utilização por imersão ou aspersão depende basicamente do processo de fabricação do salame tipo Italiano. A aplicação por aspersão normalmente utiliza uma quantidade menor de natamicina, mas a desvantagem é que se não for bem aplicada pode ficar com áreas nas peças sem o produto e nessas áreas os bolores podem se desenvolver.

4.4 Avaliação sensorial

Os salames tipo italiano são predominantemente embalados a vácuo no Brasil. Geralmente são vendidos em embalagens termoencolhível (tipo Cryovac), ou em embalagens termoformadas (filme tampa e fundo), sendo a cor o fator sensorial determinante para a compra do produto. Depois do produto aberto, fatores como o sabor, o aroma e a textura definem a aceitação ou rejeição do salame, podendo assim fazer com que o consumidor volte ou não a comprá-lo. A fidelização do consumidor a marca do produto é o que as indústrias buscam para garantir a venda do produto por um longo período de tempo.

Os valores relativos à avaliação sensorial realizada por quinze degustadores treinados pela empresa após o salame tipo Italiano ser embalado em embalagem termoencolhível (Cryovac) são mostrados na Tabela 8.

Tabela 8 – Valores das Médias atribuídas para os atributos textura, sabor, aroma e cor avaliadas por 15 degustadores treinados.

Atributos	T1 (0,1%)	T2 (0,05%)	T3 (0,025%)	T4 (0,1%)*
Textura	4,93 ^A ± 0,61	5,60 ^A ± 0,58	5,00 ^A ± 0,01	5,00 ^A ± 0,01
Sabor	5,13 ^A ± 0,26	5,20 ^A ± 0,34	5,40 ^A ± 0,44	5,27 ^A ± 0,26
Aroma	5,07 ^A ± 0,24	4,87 ^A ± 0,44	4,93 ^A ± 0,54	4,60 ^A ± 0,35
Cor	4,73 ^A ± 0,40	5,27 ^A ± 0,37	5,00 ^A ± 0,01	5,40 ^A ± 0,44

NOTA: médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05), sendo comparadas letras maiúsculas em linhas.

Através da Tabela 8 pode-se observar que referente aos atributos textura, sabor, aroma e cor as médias ficaram com valores próximos a 5, ou seja, igual ao padrão. Não houve diferença significativa entre elas a nível de 5% que pudesse revelar algum atributo sensorial melhor ou pior das amostras tratadas com natamicina em relação ao padrão.

Portanto, quanto ao aspecto sensorial pode ser utilizada a natamicina para os salames tipo italiano. Os tratamentos ficaram com resultados muito próximos ao salame Padrão.

Esses resultados demonstram que realmente a Natamicina não influencia no aspecto sensorial, talvez pelo fato de ser utilizado normalmente apenas superficialmente nos produtos. Isso também foi observado por Rocha (2004), que utilizou a natamicina a 0,1% e 0,05% no tratamento superficial contra o crescimento de fungos em queijo Minas, e realizando o teste de comparação múltipla não encontrou diferença significativa para cor, sabor, odor e textura entre as amostras tratadas com natamicina e o padrão (sem natamicina).

Gaio (2008), em seu trabalho com salame tipo italiano em que utilizou óleo de manjeriço com diferentes concentrações na formulação aplicando na massa, os tratamentos utilizando óleo essencial de manjeriço visando ter um efeito antioxidante foram classificados como muito e extremamente diferentes do padrão em relação ao aroma e sabor, sendo assim rejeitadas pela equipe de julgadores.

5 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos e dos objetivos que levaram a esse trabalho ser realizado, conclui-se que:

- A natamicina reduziu a contagem significativamente de Fungos em relação ao padrão.
- A concentração de 0,1% de natamicina demonstrou maior eficiência.
- A Natamicina não interferiu nos resultados físico químicos e na análise sensorial.

Depois de finalizado o trabalho, a natamicina foi implantada na empresa em linha de produção com 0,1% em imersão (T1). Verificou-se a eliminação completa do crescimento de bolores e leveduras indesejáveis nos salames tipo Italiano nas salas de maturação, o que melhorou muito o processo e contribuiu para garantir a segurança alimentar dos clientes da empresa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AYRES, J. C., L. LEISTNER, M. SUTIC, P. E. et al. 1974. Mold growth and mycotoxin production on aged hams and sausages, p. 218-227. In Proceedings of the **IV International Congress on Food Science and Technology**, vol. III. Selegraf, Valencia, Spain.

BACUS, J. N. Fermented meat and poultry products. In: A.M. Pearson and T.R. Dutson, Editors, **Advances in meat research. Meat and poultry microbiology**, London : AVI Publishing, p. 123–164, 1986.

BACUS, J. N. e BROWN, W. L.. Use of microbial cultures: meat products. **Food Technol.** 35, 74-78. 1981

BORTOLUZZI, R. C. Análise sensorial. SIMPÓSIO DE TECNOLOGIA DE PRODUTOS CÁRNEOS, 4., 1996, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria:Universidade Federal de Santa Maria, 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretária da Defesa Agropecuária. Instrução Normativa n° 22 de 31 de agosto de 2000. Aprova Regulamentos Técnicos de Identidade de Qualidade de Derivados Cárneos. **Diário Oficial da União**, Brasília, p.15-28, 03 de agosto de 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – **Métodos analíticos oficiais para Análises Microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água**. Instrução normativa n°62 de 26 de agosto de 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e do Abastecimento – **Métodos analíticos Físico-Químicos para Controle de Produtos Cárneos e seus Ingredientes – Sal e Salmoura**. Instrução normativa n°20 de 21 de Julho de 1999.

BRANEN, A. L. & DAVIDSON, P. M. **Antimicrobials in Foods**. New York: Marcel Dekker. 1983. 465p.

BRUNA, J. M.; Fernández, M.; Herranz, B.; Ordóñez, J. A. & Hoz, L. Microbial and physico-chemical changes during the ripening of dry fermented sausages superficially inoculated with/or added with an intracellular cell free extract of *Penicillium aurantiogriseum*. **Meat Science**, v. 59, 87–96, 2001.

CASTRO, L. C.; LUCHESE, R. H.; MARTINS, F. P. Efeito do uso da cepa starter de *Penicillium nalgiovense* na qualidade de salames. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.20, n.1, 2000.

COOK, P.E. Fungal ripened meats and meat products. In: Campbell-Platt, G. and Cook, P.E. **Fermented meats**, Glasgow: Blackie Academic and Professional, 1995.p. 110–129.

COULTATE, T.P. **Food – The Chemistry of its Components**. The Royal Society of Chemistry. 4.ed. London. Royal Society of Chemistry. 2002, 432 p.

DRAGONI, I.; CANTONI, C. & SPADA, S. Ammuffiamento nero di insaccati crudi stagionati. **Industrie Alimentari**, v. 3, p. 219-222, 1986.

DUTCOSKI, S. D. **Análise Sensorial de Alimentos**. Curitiba: Ed. Champagnat, 1996. 123p.

FERNÁNDEZ, M.; ORDÓÑEZ, J.A. ; BRUNA, J. M. ; HERRANZ, B.; HOZ, L. Accelerated ripening of dry fermented sausages. **Food Science & Technology**, v.11, p. 201-209, 2001.

FORREST, J.; ABERLE, E. D.; HEDRICK, H. B. et al. **Fundamentos de Ciencia de la Carne**. Zaragoza: Acríbia, 1979.

FURTADO, M. M. **A arte e a ciência do queijo**. 2. Ed.. São Paulo: Globo, 1991

FURTADO, M. M. **Principais problemas dos queijos: Causas e Prevenção**. Ed..Revisada e ampliada.. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora, 2005.

GAIO, I. **Atividade antimicrobiana e antioxidante in vitro e em salame tipo Italiano do óleo essencial de manjeriço**, 2008, 141 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Regional Integrada – URI, Erechim.

GRAZIA, L.; ROMANO, P.; BAGNI, A. et al. The role of moulds in the ripening process of salami. **Food Microbiology** n.3, p. 19–25, 1986.

HAYES, P.R. **Microbiología de los Alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1993.

HOLLEY, R. A. Prevention of surface mold growth on Italian dry sausages by natamycin and potassium sorbate. **Applied and Environmental Microbiology**. Vol 41, n.2, p. 422-429, 1981.

HUGAS, M.; MONFORT, J. M. Bacterial starter cultures for meat fermentation. **Food Chemistry**, v. 59, n. 04, p. 547-554, 1997.

JAY, J.M. **Microbiología moderna de los Alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1973.

JESSEN, B. Starter culture for meat fermentations. **In Fermented Meats**. (Eds G. Campbell-Platt and P. E. Cook) pp. 130-159. London, Blackie Academic & Professional. 1995.

LEISTNER, L. Toxigenic penicillia occurring in feeds and foods: a review. **Food Technology in Australia**. n. 36, p. 404-413, 1984.

LEISTNER, L. & PITT, J.I. Miscellaneous Penicillium toxins. In Rodricks, J. V., Hesseltine, C.W. & Mehlmann, M.A. (Ed). **Mycotoxins in human and animal health**. Park Forest South: Pathotox Publishers, p. 639-653, 1977.

LÜCKE, F. K. **Fermented sausages**. In: Wood, B. J.B. (Org) Microbiology of fermented foods. 2 ed., London: Blackie Academy Professional. v. 2, p.441-483. 1998.

LÜCKE, F. K. Utilization of microbes to process and preserve meat. **Meat Science**, v. 56, p. 105-115, 2000.

LÜCKE, F.K.; HECHELMANN, H. Starter cultures for dry sausages and raw ham. **Fleischwirtschaft** v. 67, p. 307-314, 1987.

MASTERS, B. D. Fate of Salmonella inoculated into fermented sausage. **Meat Science**. Thesis, University of Florida, Gainesville. 1979

MIZAKOVA .A.; PIPOVA . M; TUREK . P. The Occurrence of Moulds in Fermented Raw Meat Products. **Czech J.Food Sci.** V20, p.89-94, 2002.

MORAES, M. A. C. **Métodos para avaliação sensorial dos alimentos.** 8. ed., Campinas: Ed. da UNICAMP, 1993. 93 p.

NISKANEN, A. AND NURMI, E. Effects of starter culture on staphylococcal enterotoxin and ther- monuclease production in dry sausage. **Appl. Microbiol.** 34, 11-15. 1976.

OBREGÓN, A.C. Métodos de Conservación em Cárnicos y Lácteos. **Mundo Lácteo e Cárnico**, pp. 24.2004

OSTRÝ V. (2001): Výskyt plísňí v mase a masných výrobkách (I). Vliv na zdraví člověka. **Maso**, 12: 20–24.

PANETTA, J. C. Propriedades sensoriais dos alimentos, **Higiene Alimentar**, v.6, n. 22, p. 15-16, 1992.

ROCHA, A. M. P. **Controle de fungos durante a maturação de queijos Minas padrão**, 2004, 96f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, Santa Maria-RS.

RÖDEL, W.; SIEBING, A. & KRÖCKEL, L. Ripening parameters for traditional dry sausages with a mould covering. **Fleischwirtschaft International**, v. 1, p. 14-24, 1994.

SAMSON, R.A.; HOEKSTRA, E.S.; FRISVAD, J.C. et al. Introduction to food-borne fungi. **Centraal bureau voor Schimmelcultures**, Baam, 1995.

SCHMIDT, S.; BERGER, R. G. Aroma compounds in fermented sausages of different origins. **Lebensm-Wiss u-Technology**, v. 31, p. 559-567, 1998.

SINGH, B.J. & DINCHO, D. Mold as protective cultures for raw dry sausages. **Journal of Food Protection**, v. 57, p. 928-930, 1994.

SIMONOVÁ, M., STROMPFOVÁ, V., MARCINÁKOVÁ, M. *et al.* Characterization of *Staphylococcus xylosus* and *Staphylococcus carnosus* isolated from Slovak meat products. **Meat Science**, v.73 p. 559-564, 2006.

SIRVIO, P., NURMI, E., POULANNE, E. e NIINIVAARA, F.P. Der Einfluss von Starterkulturen und verschiedenen Zusatzstoffen auf das Wachstum von Salmonella senftenberg in Rohwurst. **Fleischwirtschaft** **56**, 1007-1012.1977

TERRA, N. N. **Apontamentos de tecnologia de carnes**. São Leopoldo: Editora Unisinos, 216p. 1998

TERRA, N. N. A Cura na Industrialização da Carne, Verdades e Mitos. In: **Curso Tecnologia de Produtos Cárneos Curados**. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 1993.

TERRA, N., MASSAMI, S., OLIVO, R., et al. **Atualidades em Ciencia e Tecnologia de Carnes**. Editora Varela, 33p. 2006.

TORRES, E. A. F. S. A questão do uso de natamicina em alimentos. **Revista Higiene Alimentar**. v.11, n.51, p.6, 1997.

VERPLAETSE, A. Influence of raw meat properties and processing technology on aroma quality of raw fermented meat products. ICoMST, 40, 1994, Netherlands. **Proceedings...** Netherlands, ICoMST, 1994.

ANEXO

ANEXO A - Ficha utilizada para aplicação do teste de Comparação Múltipla na avaliação do atributo Sabor.

TESTE DE COMPARAÇÃO MÚLTIPLA	
Nome: _____ Data: _____	
<p>Você está recebendo uma amostra controle (C) e 4 amostras testes codificadas. Compare cada amostra com o controle e identifique se é melhor, igual ou pior que o controle em relação ao sabor.</p> <p>Em seguida, assinale o grau de diferença de acordo com a escala:</p> <p>1 – Extremamente melhor que o controle 2 – Muito melhor que o controle 3 – Regularmente melhor que o controle 4 – Ligeiramente melhor que o controle 5 – Nenhuma diferença do controle 6 – Ligeiramente pior que o controle 7 – Regularmente pior que o controle 8 – Muito pior que o controle 9 – Extremamente pior que o controle</p>	
Amostra	Grau de Diferença
395 (T1)	
724 (T2)	
461(T3)	
583(T4)	
Comentários: _____	
