

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

**INFLUÊNCIA DA UTILIZAÇÃO DO EXTRATO
HIDROALCOÓLICO DE PRÓPOLIS SOBRE O
DESENVOLVIMENTO DE FUNGOS E
CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E SENSORIAIS
DO SALAME TIPO ITALIANO**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Rosiele Lappe

Santa Maria, RS, Brasil.

2004

**INFLUÊNCIA DA UTILIZAÇÃO DO EXTRATO
HIDROALCOÓLICO DE PRÓPOLIS SOBRE O
DESENVOLVIMENTO DE FUNGOS E CARACTERÍSTICAS
FÍSICO-QUÍMICAS E SENSORIAIS DO SALAME TIPO
ITALIANO**

por

Rosiele Lappe

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos.

Orientador: Profº. Dr. Ernesto Hashime Kubota

Santa Maria, RS, Brasil

2004

**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

**INFLUÊNCIA DA UTILIZAÇÃO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE
PRÓPOLIS SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE FUNGOS E
CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E SENSORIAIS DO SALAME
TIPO ITALIANO**

elaborada por
Rosiele Lappe

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

COMISSÃO EXAMINADORA:

Profº. Drº. Ernesto Hashime Kubota, Dr.
(Presidente/Orientador)

Profª. Drª Luisa Helena Rychcki Hecktheuer
(UFSM)

Profª. Drª. Lisiane de Marsillac Terra
(UFSM)

Santa Maria, 22 de outubro de 2004.

DEDICATÓRIA

Á minha querida irmã Ivaneze Lappe Giovelli, pelo amor, incentivo e segurança que sempre me transmitiu, fazendo tudo se tornar mais fácil. E pela amizade que, apesar da distância, torna-se cada vez maior.

AGRADECIMENTOS

A Deus por estar sempre comigo e iluminar o meu caminho.

A Universidade Federal de Santa Maria pelas oportunidades.

Aos meus pais, Ivo e Tereza Lappe, que sempre me apoiaram e não pouparam esforços para que os meus sonhos se tornassem possíveis.

A minha irmã Ivaneze Lappe Giovelli e ao meu cunhado Elemar Giovelli pelo apoio e carinho indispensáveis.

Aos meus sobrinhos Alexandre e Henrique Giovelli por tornarem a minha vida ainda mais cheia de alegria.

Ao meu orientador Prof^o. Ernesto Hashime Kubota pela confiança em mim depositada, pela dedicação com a minha dissertação, por tudo que me ensinou e, principalmente, pelo seu exemplo, que vou levar para a vida toda.

As professoras Luisa Helena R. Hecktheuer e Neidi Garcia Penna pela amizade e pelo apoio em todos os momentos.

A todos os professores do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos que de alguma forma contribuíram para a realização do meu trabalho.

A Marialene Manfio, funcionária do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, pela amizade e por estar sempre disposta a ajudar.

A todos os funcionários do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos que foram essenciais para o bom andamento do meu trabalho.

Ao Paulo César Campagnol, bolsista de iniciação científica, pela sua dedicação indispensável no meu trabalho.

A CAPES pela bolsa concedida.

A minha amiga Márcia Crestani por todos os momentos compartilhados nesses anos.

As minhas colegas de Mestrado, Ana Maria Drehmer, Liana Canterle, Nívia Streit e Simone Rossato, pela amizade e companheirismo.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. O salame tipo Italiano.....	4
2.1.1. Características do salame tipo Italiano.....	5
2.1.2. Qualidade do salame.....	5
2.2. A presença de mofos em produtos cárneos.....	6
2.3. A própolis.....	8
2.3.1. A origem da própolis.....	8
2.3.2. Composição química da própolis <i>in natura</i>	9
2.3.3. Propriedades da própolis.....	10
2.3.4. Mecanismo de ação e toxicidade.....	11
2.3.5. Atividade antioxidante da própolis.....	12
2.4. Qualidade sensorial.....	13
2.4.1. Cor.....	14
2.4.2. Aroma.....	14
2.4.3. Sabor.....	15
2.4.4. Textura.....	16
2.4.5. Aparência.....	17
3. Artigos Científicos.....	18
3.1. Artigo 1 - Influencia de la utilización del extracto hidro alcohólico de propolis em las propiedades físico-químicas del salame de tipo Italiano.....	19

3.2.	Artigo 2 - Influência da utilização de extrato hidroalcoólico de própolis na formação de mofos e nas características sensoriais do salame tipo Italiano.....	32
4.	Discussão.....	44
5.	Conclusões.....	52
6.	Sugestões.....	53
7.	Referências Bibliográficas.....	54
8.	Anexos.....	62

LISTA DE TABELAS

- TABELA 1 - Resultados de los análisis físico-químicos de las muestras de salame de tipo italiano tratados con solución hidroalcohólica de propolis en diferentes concentraciones y muestras control durante el período de maduración. 28
- TABELA 2 - Médias das notas atribuídas pelos provadores no teste de aceitabilidade (escala hedônica 1-9 pontos) dos salames controles e tratados com soluções hidroalcoólicas de própolis nas concentrações de 0,5, 1, 2 e 4%..... 43

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 - Valores de actividad de agua en los salames tratados con propolis y en los controles desde el día de la fabricación hasta el final de la maduración..... 26
- FIGURA 2 - Valores del desarrollo del pH en los salames tratados con propolis y en los controles desde el día de la fabricación hasta el final de la maduración.....27
- FIGURA 3 - Resultados das análises de bolores e leveduras no salame tipo Italiano nas amostras controle e tratadas com própolis nas concentrações de 0,5, 1, 2 e 4% no decorrer do período de maturação.....41

RESUMO

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

INFLUÊNCIA DA UTILIZAÇÃO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE PRÓPOLIS SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE FUNGOS E CARACTERÍSTICAS FÍSICO- QUÍMICAS E SENSORIAIS DO SALAME TIPO ITALIANO.

Autora: Rosiele Lappe
Orientador: Ernesto Hashime Kubota
Co Orientador: Nelcindo Nascimento Terra
Data e local da defesa: Santa Maria, 22 de outubro de 2004.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a eficiência do extrato hidroalcoólico de própolis, em diferentes concentrações, no controle da formação de fungos na superfície de salame tipo Italiano, bem como a sua influência sobre os parâmetros físico-químicos e sensoriais. A solução de própolis foi diluída em quatro concentrações diferentes: 0,5; 1; 2 e 4%. O salame foi fabricado e dividido em cinco lotes, sendo quatro tratamentos nas respectivas concentrações e um controle. Os tratamentos foram realizados através de aspersão da solução de própolis sobre os salames. O efeito da solução de própolis sobre as características físico-químicas e sobre o desenvolvimento de fungos foi avaliado no 1^o, 7^o, 14^o e 19^o dia quando deuse por finalizada a fabricação do salame. A avaliação das características sensoriais, a contagem de *Estafilococos* coagulase positiva, coliformes totais e fecais foram realizadas apenas no final do processo. A contagem de bolores e leveduras não apresentou diferença estatística significativa. Porém, a diferença de ciclos logarítmicos entre o lote controle e os tratamentos foi bastante considerável sob o ponto de vista microbiológico. No lote controle o crescimento de mofos foi bem mais pronunciado tanto em número de colônias quanto ao tipo de coloração, que nesses produtos apresentou coloração escura à esverdeada. Nos salames tratados ocorreu apenas o crescimento de mofos brancos, desejáveis nesse tipo de produto. O pH dos salames tratados teve um ligeiro aumento no final do período de maturação, as demais características físico-químicas dos salames não diferiram significativamente pelo uso da solução de própolis. Os atributos sensoriais analisados mostraram que os salames tratados com diferentes concentrações de própolis e o grupo controle resultaram em um produto com características organolépticas semelhantes. Somente o atributo 'textura' revelou uma preferência dos painelistas pelas amostras tratadas com 2 e 4% de própolis. Não ocorreu presença de coliformes fecais e as contagens de *Estafilococos* coagulase positiva e coliformes totais encontraram-se dentro dos limites permitidos pela legislação vigente para o salame tipo Italiano. Sendo assim, conclui-se que a utilização de solução hidroalcoólica de própolis foi eficiente no controle da formação de mofos, principalmente nas concentrações de 2 e 4% e, que de uma forma geral, não influenciou significativamente nas características físico-químicas e sensoriais do salame tipo Italiano.

ABSTRACT

Master Dissertation
Post-Graduate Course in Food Science and Technology
Federal University of Santa Maria, RS, Brazil

INFLUÊNCIA DA UTILIZAÇÃO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE PRÓPOLIS SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE FUNGOS E CARACTERÍSTICAS FÍSICO- QUÍMICAS E SENSORIAIS DO SALAME TIPO ITALIANO.

(Influence of the use hydroalcoholic extract of propolis on the development of moulds on physic-chemical and sensorial properties of Italian dry sausage)

Author: Rosiele Lappe

Adviser: Ernesto Hashime Kubota

Co Adviser: Nelcindo Nascimento Terra

Place and data of defense: Santa Maria, October 22, 2004.

The objective of the present work evaluate the efficiency of the hydro alcoholic extract of propolis in different concentrations in the control from the development of moulds in the Italian dry cured sausage surface, as well as to its influence about the parameters physic-chemical and sensory. The solution of propolis was diluted in four different concentrations: 0,5; 1; 2 and 4%. The salami was manufactured and divided in five lots, being four handlings in the respective concentrations and a control. The treatments were carried through spray from the solution of propolis on the salamis. The effect of the solution of propolis about the physic-chemical characteristics and on the development of moulds was evaluated on the 1^o, 7^o, 14^o and 19^o day when it was finished the production of the salami. The evaluation of the sensorial characteristics, counts of Staphylococcus coagulase positive, total coliforms and coliforms at 45°C were carried out almost in the end of the trial. Counts of moulds and yeasts did not present significant statistical difference. However, the difference of logarithmic cycles between the lot control and the treatments was considered sufficient under the microbiological point of view. In the lot control, the growth of moulds were well more pronounced so much in number of colonies as regards the kind of coloring, which in those products presented dark coloring to the greenish one. In the treated salamis the desirable, white growth of moulds in that kind of product occurred barely. The pH of the treated salamis had a light increase in the end of the ripening, the too characteristics physical chemistry of the salamis did not differ significantly by the use from the solution of propolis. The sensory attributes analyzed showed that the treated salamis with different concentrations of propolis and the group control result in a product with sensory characteristics similar, only the attribute 'texture' revealed a preference of the tasters by the treated samples with 2 and 4% of propolis. Not presence occurred of coliforms at 45°C and the counts of Staphylococcus coagulase positive and total coliforms they found themselves inside the limits permitted by the legislation in force for the Italian salami kind. Therefore, I concluded that the usage of hydro alcoholic solution of propolis was efficient in the control of moulds formation, mainly in the concentrations of 2 and 4% and, in a general form, did not influence significantly in the characteristics physical chemistry and sensory of the Italian salami kind.

1. INTRODUÇÃO

A elaboração de embutidos teve seu início com o processo de salga, secagem e fermentação (Terra, 1998). Estes procedimentos visavam conservar a carne fresca que não podia ser consumida imediatamente. Com o passar do tempo, os nossos antepassados descobriram que estes produtos melhoravam em sabor, aroma e, principalmente, em conservação com a adição de especiarias e de outros condimentos. Originária da Europa, a fermentação foi uma alternativa de conservação de carnes que evoluiu e tomou identidade própria.

A introdução dos produtos cárneos fermentados no Brasil, data da colonização por imigrantes alemães e italianos, principalmente na região sul do país. Este fenômeno social deu origem à industrialização destes produtos, hoje, importante segmento da indústria cárnea.

A elaboração de embutidos, antes tomada como arte, hoje, caracteriza-se como uma ciência altamente sofisticada. Novos conhecimentos surgem a cada dia tanto na indústria e nos laboratórios, como nas universidades, fazendo com que a elaboração de embutidos seja uma das áreas mais dinâmicas da indústria cárnea (Price & Schweigert, 1994).

Com o passar do tempo, o processo de produção dos salames foi evoluindo, passando de um processo empírico e artesanal para um processo mais elaborado, com o intuito de fazer um produto com características uniformes e com um melhor padrão de qualidade (Mello, 2003).

Os procedimentos tradicionais para a preservação da carne são a secagem, salga e fermentação. Este último procedimento caracteriza o salame, que é um produto cárneo cru, curado, de massa grossa, embutido, fermentado e desidratado o que permite ao produto conservação em temperatura ambiente, sem necessidade de frio (Terra, 1998).

O embutido cru adquire sua conservação através do processo de maturação e desidratação, sendo que a maturação é um dos mais importantes processos, onde ocorrem fenômenos físicos, bioquímicos e microbiológicos, consideravelmente significativos (Coretti, 1971). É nessa fase que ocorre a formação de mofos na superfície de salames e, dependendo da intensidade e do tipo de mofo que se forma, pode influenciar de maneira bastante intensa as transformações que ocorrem no período de maturação.

A presença de mofos na superfície de salames pode conduzir a efeitos desejáveis e indesejáveis. O seu desenvolvimento, dificilmente evitável, pode ser explorado como aspecto de qualidade que venha complementar as mudanças bioquímicas envolvidas na maturação do produto. Entretanto, 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 (Andersen, 1995; Leistner & Pitt, 1977).

A inexistência de complexos climatizados em muitas empresas processadoras de salames e o controle não totalmente efetivo das condições ambientais nas câmaras climatizadas existentes favorecem o desenvolvimento de uma microbiota fúngica indesejável. Dessa forma, é necessário fazer a utilização de outros meios que possam ser eficientes no controle da formação desses microrganismos (Castro *et al.*, 2000).

A própolis tem sido usada como remédio na medicina popular, como constituinte de biocosméticos, como conservante em alimentos e outras numerosas finalidades (Ghisalberti, 1979).

Muitos estudos vêm sendo desenvolvidos para comprovar as propriedades conservantes da própolis em alimentos. As ações antibacterianas e antifúngicas são as propriedades mais amplamente pesquisadas da atividade biológica da própolis (Marcucci, 1995).

Considerando-se a importância do processo de maturação do salame enquanto aspecto de segurança ao consumidor e qualidade organoléptica, desenvolveu-se o presente estudo com o objetivo de verificar a eficácia do extrato hidroalcoólico de própolis em diferentes concentrações no controle da formação de mofos na superfície de salames tipo Italiano, bem como a sua influência nos parâmetros físico-químicos e sensoriais característicos desse produto.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A carne tem um grande valor nutricional, comercial e social, mas apresenta um limite de *shelf life*. Uma mistura comum de carne com gordura e sal acabou causando acidificação e secagem dando um produto seguro e com *shelf life* aceitável (Demeyer *et al.*, 1986). Os procedimentos tradicionais para a preservação da carne são a secagem, salga e fermentação. Este último procedimento remota aos babilônios e chega até nós através dos salames.

A fermentação e secagem são os mais antigos métodos de preservação dos alimentos conhecidos pelo homem. Provavelmente, a principal razão pela qual produtos fermentados tornaram-se populares foi a sua estabilidade em climas quentes. A inerente estabilidade dos embutidos fermentados era, no princípio, dependente da fermentação natural, que reduzia o pH da carne, prevenindo o crescimento de microrganismos indesejáveis (Terra, 1998).

Ao longo dos anos, o processo de fermentação dos salames foi sendo conduzido de forma empírica. Manipulavam-se os diversos ingredientes e matérias-primas utilizadas na sua fabricação conforme as preferências do salameiro, aproveitando-se as bactérias naturalmente presentes na carne, ou conseqüentes da contaminação das matérias-primas utilizadas. Esta situação originou uma grande diversidade de salames nas mais diferentes regiões do mundo, muitas delas emprestando seu nome aos produtos fabricados (Hammes *et al.*, 1990).

Antigamente, a fermentação era o resultado da ação dos microrganismos resultantes das contaminações sobre os açúcares existentes na formulação com produção de ácido láctico. A qualidade dos salames não era uniforme, pois dependia da "house flora" (Coventry & Hickey, 1991 apud Terra, 1998). Situação semelhante é encontrada, ainda nos dias atuais, nos produtos coloniais manufaturados de forma artesanal, o que além de dar origem, na maioria das vezes, a maturações defeituosas, coloca em risco a saúde dos consumidores.

Há indícios de que, na antiguidade, a ação de cura se realizava instintivamente com salitre, com sal comum impurificado ou por meio do uso de cinzas de plantas ricas em nitratos. Um dos primeiros documentos em forma escrita sobre a ação da cura em carnes com salitre data de 1744. Os primeiros fundamentos científicos foram publicados por Haldone em 1901, citado por Prandl (1981).

No Brasil, a fabricação de salames teve início com os imigrantes italianos, que estabeleceram as primeiras fábricas, destinada à produção de diferentes tipos, especialmente os salames tipo italiano (de massa grossa) e milano (de massa fina) (Yamada, 1995). Entretanto, analisando apenas os salames tipo italiano, observa-se que muitos são fabricados sem uma preocupação maior com o uso correto da tecnologia de produção disponível. Desta forma, as variações existentes devem-se não apenas às diferentes formulações e matérias-primas utilizadas, mas também aos possíveis descontroles nas diferentes etapas do processo de fabricação (Proller, 1994).

Os primeiros salames fabricados no Brasil apresentavam alto grau de secagem para suportar a conservação sem frio e o longo período de estocagem e transporte para os centros maiores (Yamada, 1995).

Embutidos secos, os salames são produtos que dispensam a refrigeração e tem grande estabilidade quando comparados com outros produtos cárneos. Distinguem-se dos demais embutidos pelo seu baixo teor de umidade (aproximadamente 35%) e pela presença de ácido láctico que lhe confere sabor agradável (Bacus, 1984).

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 a desidratação, que além de reforçar algumas propriedades sápicas, reduz a atividade de água a níveis insuportáveis aos microrganismos responsáveis pela deterioração do salame.

2.1. O SALAME TIPO ITALIANO

O salame é um embutido cru, curado, fermentado, maturado e dessecado que poderá ser ou não submetido à defumação. No Brasil, as características de identidade e qualidade de oito tipos de salame estão definidas (Brasil, 2000), sendo que a diferenciação entre eles está no tipo de matéria prima (espécie animal), na granulometria da carne e do tocinho e principalmente na condimentação.

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).

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, por 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 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).

As normas de identidade e qualidade do salame tipo Italiano descrevem os seguintes valores para o produto citado: atividade de água máxima de 0,90, umidade máxima 35%, gordura máxima 32%, proteína mínima 25%, carboidratos totais 1,5%, além de outros (Brasil,2000).

2.1.1. Características do salame tipo Italiano

O salame é um produto cárneo fermentado muito apreciado em nosso meio, em função de seu sabor e aroma peculiares. É fabricado utilizando-se matérias primas selecionadas, particularmente carne suína e bovina, além de toucinho, sal, pimenta, açúcar e aditivos, que após terem sido adequadamente misturados são embutidos em tripas de tamanho variável.

Posteriormente são fermentados e maturados até atingirem as características desejadas (Coretti, 1971; Pardi, 1993), o que ocorre num prazo de 30 a 60 dias, ao fim dos quais o salame apresenta uma perda de aproximadamente 40% de seu peso inicial.

2.1.2. Qualidade do salame

A qualidade global de um alimento é determinada por diversos fatores ou parâmetros, incluindo características ou atributos de natureza física, química, nutricional, organoléptica e microbiológica (Roitmann *et al.*, 1987).

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, o 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 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, segundo Terra (1993), acredita-se 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.

A legislação brasileira (Brasil, 1998) limitou em 0,015g/100g (150 ppm), o teor máximo de nitrito e 0,030g/100g (300 ppm), o teor máximo de nitrato, em conservas de carnes, para que não seja colocada em risco a saúde da população exposta.

Quanto à qualidade microbiológica, o processamento do salame requer cuidados especiais desde a matéria-prima até a armazenagem e consumo. Em relação à matéria-prima – carne – por ocasião do abate, pode ser contaminada por microrganismos patogênicos, em contato com pêlo, pele, cascos, conteúdo do estômago e vísceras, equipamentos e utensílios utilizados, mãos e vestuários dos manipuladores bem como a água utilizada na lavagem das carcaças (Igran & Simonsen (1985); Leitão (1984)).

2.2. A PRESENÇA DOS MOFOS EM PRODUTOS CÁRNEOS FERMENTADOS

Os mofos 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).

No caso do salame italiano, onde há crescimento de mofos e leveduras na superfície do embutido, ocorrem intensas mudanças químicas durante a etapa de desidratação, que se pode considerar como maturação. Muitas reações estão envolvidas nessas mudanças: fermentação de carboidratos, lipólise e proteólise, assim como a defumação. Os mofos, particularmente, têm um efeito importante, com hifas que penetram através da tripa e, assim, na massa de carne. O metabolismo do

ácido láctico dá lugar a um aumento de pH, fazendo com que o conteúdo de umidade seja mais constante evitando a desidratação da superfície.

Segundo Grazia *et al.*, 1986, estudos com salames italianos têm demonstrado que os mofos 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 mofos 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, 1997), 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, 1997) e facilidade na retirada da tripa (Grazia *et al.*, 1986).

De acordo com Geisen *et al.* (1979), a influência dos mofos no aroma de salames está principalmente relacionada ao seu efeito antioxidante e à habilidade deles para produzir enzimas (exolipases e exoproteases) que fazem a degradação de lipídios e proteínas, transformando essas substâncias em compostos voláteis essenciais para o desenvolvimento do sabor característico do salame italiano.

Segundo Demeyer *et al.* (1992), a proteólise é um das mudanças bioquímicas mais importantes que ocorre durante a maturação de embutidos fermentados. Influencia na textura e no desenvolvimento do sabor devido à formação de vários compostos de baixo peso molecular, inclusive peptídeos, aminoácidos, aldeídos, ácidos orgânicos e aminas que são componentes importantes do sabor.

Na lipólise, a ação de certas enzimas de mofos em ácidos graxos livres leva à formação de vários compostos responsáveis pelo aroma, inclusive metilcetonas e, por redução, o seu álcool secundário correspondente (Creuly *et al.* (1992); Karahadian (1985); Kinsella(1976)).

Entretanto, a presença e o crescimento de fungos em alimentos pode causar perdas e resultar em uma redução em qualidade e quantidade. Os efeitos negativos normalmente são ligados ao crescimento de mofos indesejáveis. O principal efeito

desse grupo é a produção de metabólitos secundários altamente tóxicos, micotoxinas que além dos efeitos tóxicos agudos, também sejam carcinogênicos e possam provocar efeitos degenerativos no fígado (Samson *et al.*, 1995). Esses mofo podem produzir manchas de coloração verde, marrom ou preta que não são aceitáveis à maioria dos consumidores e, ainda, podem ter impacto negativo no aroma e no sabor. Ainda, muitos alimentos associados ao *Penicillium* possuem habilidades para produzir penicilina (Andersen, 1995) que poderia aumentar o risco de alergia para este antibiótico se ingerido (Bremmelgaard, 1998). Algumas espécies de *Aspergillus* são fungos xerófilos e são responsáveis por muitos casos de contaminação de alimentos. *A. flavus* e *A. parasiticus* podem produzir aflatoxinas em alimentos e rações (Guo *et al.*, 1996).

Sendo assim, a colonização da superfície de salames por mofo inapropriados pode ter como consequência à produção de salames defeituosos (Creuly *et al.*, 1992) pela produção de manchas de coloração que não são aceitáveis à maioria dos consumidores e, ainda, podem ter impacto negativo no aroma e no sabor, bem como aumentar o risco da produção de micotoxinas (Andersen, 1995).

2.3. A PRÓPOLIS

2.3.1. A origem da própolis

Própolis é o nome genérico para a substância resinosa coletada por abelhas de vários tipos de planta (CHEMID, 1996). Há uma longa história do uso de própolis, pelo menos para 300 a.C.. A palavra própolis é derivada do grego *pro-*, para ou em defesa, e *polis* -, a cidade, quer dizer, defesa da cidade (ou a colméia) (Ghisalberti, 1979).

A própolis é um tipo de goma que é coletada por abelhas de várias plantas. Pode variar em cor de amarelo claro ao marrom escuro. Pode causar coloração no favo de mel ou alvéolos e pode ser encontrada no mel extraído (USDA, 1985).

A abelha (*Apis mellifera*) coleta a resina das fendas existentes na casca de árvores e brotos. Esta resina é mastigada e adicionada de enzimas salivares, o material parcialmente digerido é misturado com a cera das abelhas e usado na colméia (Ghisalberti, 1979; Marcucci, 1995).

A própolis é uma substância fortemente adesiva, resinosa. Esta resina é utilizada pelas abelhas na proteção da colméia contra o ataque de outros insetos e contra a proliferação de microorganismos, incluindo fungos e bactérias (Ghisalberti, 1979; Marcucci, 1995).

2.3.2. Composição química da própolis *in natura*

A própolis é uma resina ou goma pegajosa, sua cor varia de amarelo esverdeado ao marrom escuro dependendo da sua fonte e idade. Pode ser comparado a uma cola aromática. É difícil de ser removida da pele humana, pois parece reagir fortemente com os óleos e proteínas da pele. Torna-se uma substância dura e quebradiça quando fria, mas torna-se macia e muito pegajosa quando quente (Ghisalberti, 1979; Koltay, 1981).

A composição precisa da própolis cru varia de acordo com a fonte de onde foi coletada. Em geral, é composta de 50% resina e bálsamo vegetal, 30% de cera, 10% de óleos essenciais e aromáticos, 5% de pólen e 5% de várias outras substâncias, incluindo fragmentos orgânicos (Cirasino *et al.*, 1987; Monti *et al.*, 1983), além de microelementos como alumínio, cálcio, estrôncio, ferro, cobre, manganês e pequenas quantidades de vitaminas B₁, B₂, B₆, C e E (Ghisalberti, 1979). Estes dados podem variar, de acordo com a região geográfica e a flora existente (Markham *et al.*, 1996). A cera e fragmentos orgânicos são removidos durante o processamento, criando a tintura de própolis.

Alguns aspectos interessantes emergem do trabalho limitado que foi realizado sobre os constituintes da própolis. De longe, o maior grupo de compostos isolados são pigmentos de flavonóides, que são onipresentes no reino das plantas. Não surpreende, portanto, que as mesmas flavonas que têm sido isoladas de amostras diferentes de própolis e a série de flavonóides isolados de própolis se correlacionam razoavelmente bem com esses presentes nas plantas das quais as abelhas coletam a própolis. Foi sugerido que algumas das flavonas são modificadas por uma enzima na abelha. Então, parece possível que alguma transformação deve ocorrer na presença de enzimas salivares das abelhas durante a coleta. Ainda, os compostos aromáticos simples encontrados em própolis também ocorrem comumente em plantas e sua presença, portanto, não é inesperada (Ghisalberti, 1979).

O fracionamento simples da própolis para obter os seus constituintes é difícil, devido a sua composição complexa. A maneira normal é extrair a fração solúvel em álcool, chamado de 'própolis balsâmico', restando a fração insolúvel em álcool ou cera. Embora o extrato etanólico de própolis (EEP) seja o mais comum, a extração com outros solventes tem sido usada para a identificação de mais de 200 constituintes (Marcucci, 1995).

Notáveis, entre a lista de constituintes, são hidroquinonas (0,1%) (Greenaway *et al.*, 1987; Greenaway *et al.*, 1991), ácido caféico e seus ésteres (2–20 %) (Bankova *et al.*, 1995) e quercetina (<0,1–0,7 %) (Greenaway *et al.*, 1990), todos têm exibido efeitos anticarcinogênicos quando administrados em roedores. Entretanto, essas três substâncias ocorrem naturalmente em alimentos.

2.3.3. Propriedades da própolis

A própolis é conhecida por possuir propriedades anticépticas, antimicóticas, bacteriostáticas, adstringentes, coleréticas, espasmolíticas, antiinflamatórias, anestésicas e propriedades de antioxidante, sua lista de preparações e usos é quase infinita (Ghisalberti, 1979; Marcucci, 1995).

Em sua aplicação natural, a função primária da própolis na colméia é agir como um biocida, e pode agir contra bactérias invasoras, fungos e, até mesmo, larvas invasoras (Ghisalberti, 1979; Lisowski, 1984; Marcucci, 1995).

Há um número de estudos documentando as funções biocidas da própolis, de seus extratos e constituintes. A atividade, relativamente ampla, está relacionada a microrganismos Gram⁺ e Gram⁻ e coccus, leveduras e fungos, entre eles organismos associados com vários graus de patogenicidade em homem e outros animais, incluindo o bacilo da tuberculose humana.

Pepeljnjak *et al.* (1982), demonstraram que o extrato de própolis foi eficaz na inibição da elaboração de toxinas (e.g. ocratoxina A por *Aspergillus sulphureus*). Eles utilizaram o extrato etanólico de própolis em *Aspergillus sulphureus* e observaram que na concentração de 2,0 mg/mL de própolis, o mesmo exibiu atividade fungistática.

Rojas *et al.* (1993), também realizaram o mesmo teste com *Mycobacterium* (30 cepas clínicas) e observaram que todas as cepas de *Mycobacterium*, com

exceção de *M. tuberculosis*, foram inibidas com 1,0 mg/mL de própolis. Somente 30% das cepas de *M. tuberculosis* foram inibidas por 2,0-5,0 mg/mL de própolis.

Em 1995, Han e Estaciona, propuseram a própolis como conservante natural em produtos cárneos, pela sua ação sobre os microrganismos e, também pelo seu efeito antioxidante.

Dieb *et al.* (1997) testaram própolis coletada por um período de um ano de 10 colônias experimentais de abelhas, sendo que seu extrato etanólico foi testado contra bactérias e mofos numa indústria de laticínios. A própolis coletada mostrou uma elevada atividade antifúngica, tendo efeito contra *Aspergillus versicolor*, *A. niger* e *A. flavus*.

Park *et al.* (1999) verificou que o extrato etanólico de própolis com 3 e 4 gramas por litro reduz a percentagem de germinação e a produção de aflatoxina em *Aspergillus flavus*.

Zeppa & Dolci (2002) utilizaram a própolis para o controle superficial de mofos em queijos de curta e média maturação, observando que a casca tratada com solução hidro-alcoólica de própolis em altas concentrações (>1,5g/L), o crescimento fúngico foi superficial ou nenhum.

2.3.4. Mecanismo de ação e toxicidade

Como com qualquer produto natural, há um número de constituintes na própolis e sua extração é realizada da mesma forma como em outros alimentos, alguns deles também são conhecidos por ter atividade biológica. Dessas substâncias com atividade biológica, nenhuma contribui tanto para os efeitos observados da própolis quanto os flavonóides.

Em suas considerações sobre os flavonóides, Havsteen (1983) divide os efeitos bioquímicos dos flavonóides em sistemas animais em quatro categorias: (1) afinidade de ligação com polímeros biológicos; (2) ligação a íons de metais pesados; (3) catálise do transporte de elétrons; e (4) capacidade de se ligar a radicais livres.

Havsteen (1983) cita vários exemplos de inibição de uma variada gama de enzimas pelos flavonóides, incluindo hidrolases e fosfatase alcalina. A própolis exibiu efeitos semelhantes inibindo glicosiltransferases de *Streptococci* cariogênico (Ikeno *et al.*, 1991), atividade inflamatória da mieloperoxidase (Frenkel *et al.*, 1993), ornitina

descarboxilase, lipoxigenase, tirosina protefna quinase e ácido araquidônico no metabolismo (Rao *et al.*, 1993).

Embora a própolis contenha uma vasta gama de substâncias, o grau de absorção provavelmente não seria diferente quando estas substâncias são consumidas em qualquer outro alimento. Os flavonóides exibem um limite de solubilidade e, embora eles sejam consumidos como glicosídeos em seu estado natural, glicosidases bacterianas são capazes de liberar os flavonóides para absorção. Além disso, flavonóides administrados oralmente foram detectados na urina (Havsteen, 1983).

Embora estudos definitivos do metabolismo da própolis não apareçam na literatura, o metabolismo de muitos componentes da própolis já é bem conhecido. A fração biologicamente mais ativa da própolis, os flavonóides, é conhecida por ser metabolizada sem deixar nenhum resíduo acumulado no corpo (Havsteen, 1983).

Quanto à toxicidade do extrato de própolis, Dobrowolski *et al.* (1991) administraram aproximadamente 700 mg/kg oralmente em um grupo de 10 camundongos (cinco machos e cinco fêmeas) e estes foram monitorados por 48 horas 'post-dose'. As preparações de própolis foram bem toleradas e não ocorreu nenhuma morte durante o período de observação de 48 horas.

Se considerar que os flavonóides são os principais constituintes biologicamente ativos do extrato de própolis, esta toxicidade relativamente baixa do extrato é previsível, uma vez que os flavonóides são de toxicidade bastante baixa.

2.3.5. Atividade antioxidante da própolis

A oxidação de um determinado material (como um pedaço de ferro, gordura ou até mesmo tecido humano) está relacionada, principalmente, à sua degradação e/ou deterioração. No corpo humano a oxidação está vinculada ao processo de envelhecimento, mutações do material genético e degradação do tecido vivo. Os compostos responsáveis por essas ações são conhecidos como radicais livres. Na natureza, diversas substâncias combatem a existência desses radicais, como a vitamina C e a vitamina E, entre outros (Park *et al.*, 1999).

Recentemente, a própolis foi estudada como uma alternativa para combater a oxidação. Sua composição química, formada essencialmente por componentes fenólicos, leva a crer que a própolis é um produto com importante poder

antioxidante, uma vez que seus constituintes são conhecidos como tais (Park *et al.*, 1999).

Alguns estudos em laboratório mostraram que um dos componentes presentes na própolis, conhecido como CAPE (Caffeic acid phenethyl éster), age como um excelente antioxidante, inibindo a formação de radicais livres. Outros estudos relatam a eficácia da própolis como antioxidante, onde a mesma inibiu a oxidação de uma mistura formada por b-caroteno e ácido linoléico em quase 95% (Park *et al.*, 1999).

2.4. 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).

Os compostos aromáticos são considerados fundamentais para o *flavor* específico dos embutidos (Stahnke, 1995). Estes compostos derivados do metabolismo provêm tanto de mudanças de lipídios, proteínas e da fração de carboidratos do embutido, formados por interação entre o músculo e o metabolismo microbiano, como das reações químicas. Proteínas e lipídios são inicialmente sujeitos à hidrólise catalisada por enzimas da carne. Isto, provavelmente, facilita o metabolismo de peptídeos, aminoácidos e ácidos graxos pelos microrganismos úteis (Demeyer *et al.*, 2000).

2.4.1. Cor

A cor é um dos parâmetros sensoriais utilizado pela maioria dos consumidores, para aceitação ou rejeição de um produto. A cor relaciona-se com a qualidade do produto, assim os alimentos têm que ser adicionados de cor para aumentar o interesse ou atingir as expectativas do consumidor (Bortoluzzi, 1996).

A cor de um produto curado é uma característica fundamental, porque é em função da cor que teremos maior atração pelo produto e que chegaremos à conclusão se o produto está pronto para consumo ou não. Nos salames, a cor é dependente do teor de pigmentos no músculo e das reações com os sais de cura (Coretti, 1971).

A cor dos produtos maturados é uma cor vermelha normal, sem excesso ou muito clara. Esse problema está diretamente ligado à transformação dos nitratos e nitritos e a temperatura inicial quando se processa o avermelhamento. Se tivermos insuficiente quantidade de nitrito, haverá avermelhamento muito lento e o produto apresentará uma cor muito clara (Coretti, 1971).

2.4.2. Aroma

O aroma é o odor de um alimento que permite a estimulação do sentido do olfato. Os odores podem atrair ou repelir os consumidores uma vez que eles podem indicar a qualidade de um produto, assim como a sanidade deste (Bortoluzzi, 1996; Mendes, 1998).

O corte do embutido cru não contém qualquer composto volátil de importância sensorial, já que tem pouco ou nenhum aroma. Por outro lado, o corte contém um grande número de precursores de aroma, os quais durante a fermentação, secagem e maturação são convertidos por enzimas endógenas, atividade microbiana e reações químicas em um grande número de compostos voláteis de importância sensorial ou não (Stahnke *et al.*, 2002).

A presença de voláteis em embutidos fermentados consiste de uma grande variedade de compostos vindo de classes químicas muito diferentes, dependendo dos ingredientes, temperos, origem da carne, defumação, culturas *starters*, condições do processo, condições de embalagem e etc. Alcanos, alcenos, aldeídos, cetonas, ácidos, álcoois, ésteres, compostos sulfurados, furanos, lactonas, aromáticos, terpenos e nitrilas estão dentro dos mais de duzentos compostos identificados, sendo que nem todos possuem relevância sensorial. Em particular alcanos e cadeias alcoólicas não ramificadas possuem valores mais elevados, influenciando no *flavor* do embutido fermentado (Grosch, 1982).

Os compostos aromáticos que compõem o *flavor* dos embutidos curados, provavelmente, provêm da degradação microbiológica de ácidos graxos e dos aminoácidos valina, leucina, isoleucina e metionina junto com compostos do catabolismo de carboidratos (Stahnke *et al.*, 2002).

O crescimento de fungos na superfície do salame como *Penicillium nalgiovense* e a adição de condimentos também contribuem para formação do aroma final desse produto (Demeyer, 1986; Castro, 1997).

2.4.3. Sabor

O sabor, também chamado de gosto, é a sensação percebida por meio do sentido do paladar, localizado principalmente na língua e na cavidade bucal (Bortoluzzi, 1996).

Os gostos básicos em produtos alimentícios são doce, ácido, salgado e amargo. Em algumas situações, alguns desses podem ser determinados quimicamente. Assim, o gosto doce pode ser avaliado pela determinação da concentração de sacarose; o gosto ácido, pela medida de pH; e o gosto salgado, pela medida da concentração de cloreto de sódio. O gosto amargo não pode ser avaliado por nenhum método instrumental. Nos produtos alimentícios, o sabor é

sempre o resultado de uma combinação desses sabores básicos, tornando-se extremamente difícil a sua avaliação por instrumentos (Panetta, 1992).

O gosto ácido é um componente importante do sabor total dos produtos cárneos fermentados (Demeyer *et al.*, 1992). As bactérias lácticas fermentam os açúcares, produzindo ácidos, os quais diminuem o pH e conferem ao embutido o gosto ácido (Galli, 1993).

2.4.4. Textura

Os três sentidos (tato, visão e audição) podem ser envolvidos na idéia de textura, mas na maioria dos casos o sentido do tato desempenha função mais importante (Brennan, 1984). A textura na boca é um parâmetro que é normalmente medido quando se avalia a textura do embutido seco sensorialmente, seja por análise descritiva ou por métodos hedônicos.

As sensações de maciez devem-se, em primeiro lugar, à facilidade com que os dentes penetram na carne; em segundo lugar, à facilidade com que a carne se divide em fragmentos e; em terceiro lugar, à quantidade de resíduo que permanece sem ser triturado depois da mastigação (Lawrie, 1967).

Os primeiros componentes considerados na determinação da textura da carne são: tecido conjuntivo, matriz de proteínas miofibrilares e gorduras. As quantidades de colágeno e sua qualidade (o grau de ligação da rede de colágeno) são importantes na maciez. Com a idade, o conteúdo muscular diminui e mudanças na estrutura colagênica ocorrem, as fibras tornam-se mais rígidas e a carne mais dura (Bailey & Light, 1989).

O salame deve conter uma consistência homogênea, capaz de resistir ao corte formando fatias, que devem ter liga e não podem esfarelar. Quando essas características não ocorrem, o produto apresenta crosta, buracos internos e massa sem consistência, mole e pastosa. Esses defeitos podem ser consequência de embutimento sem a conveniente extração do ar ou, também, um excesso de ventilação, secando rapidamente a parte externa, quando o ideal seria uma secagem lenta de dentro para fora. Se a massa for pastosa ou mole pode ter ocorrido defeito na escolha das matérias-primas, com pH alterado ou, ainda, uma batida sem controle, fazendo com que a massa perca o poder de emulsão (Mastrogiacomo, 1983).

2.4.5. Aparência

A aparência do produto também é um item muito importante observado na análise sensorial. Um produto normal deve ser liso, firme e não deve apresentar rugas.

Quando um produto se apresenta com o envoltório desprendido indica que a massa perdeu umidade de maneira diferente da tripa. A tripa escolhida deve ter elasticidade e porosidade, para se moldar ao produto e perder umidade gradativamente. Caso durante o processo o ar esteja muito seco e quente ou tenhamos uma ventilação excessiva, formar-se-á uma crosta no produto; pois, a secagem ocorre primeiramente na parte externa e posteriormente na parte interna (Mastrogiacomo, 1983).

3. ARTIGOS CIENTÍFICOS

3.1. Artigo 1

Influência da Utilização de Extrato Hidroalcoólico de Própolis nas Características Físico-Químicas de Salame Tipo Italiano¹

**Rosiele LAPPE², Ana M. DREHMER², Ernesto H. KUBOTA^{5,*}, Nelcindo N.
TERRA⁵, Paulo C. CAMPAGNOL³, Priscila R. FRACARI⁴**

Submetido à Alimentaria – Revista de Tecnologia e Higiene de los Alimentos

¹Manuscrito recebido em

²Pós-Graduação em Tecnologia e Ciência dos Alimentos, CCR, UFSM.

³Graduação em Farmácia e Bioquímica, CCS, UFSM.

⁴Graduação em Agronomia, CCR, UFSM.

⁵Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil. *E-mail:ernehk2008@yahoo.com.br.

* A quem a correspondência deve ser enviada.

Influencia de la Utilización del Extracto Hidro alcohólico de Propolis en las Propiedades Físico-Químicas de los Salame de Tipo Italiano

RESÚMEN

Este trabajo tuvo como objetivo evaluar las características físico-químicas de los salames de tipo italiano tratados con extracto hidro alcohólico de propolis en distintas concentraciones, visando su utilización como anti hongos. Los salames fueron fabricados en el Departamento de Tecnología y Ciencia de los Alimentos de la Universidad Federal de Santa Maria - Brasil y, posteriormente, fueron divididos en cinco lotes, siendo cuatro tratamientos y un control. Fueron hechas cuatro diluciones diferentes para los tratamientos, siendo 0,5; 1; 2 e 4% de solución alcohólica de propolis. Los tratamientos fueron realizados a través de la aspersion de las soluciones sobre los salames. Los salames fueron evaluados en el día de su fabricación (T_1), 7° (T_2), 14° (T_3) y 19° día (T_4). Fueron analizados pH, actividad de agua, humedad, proteína, nitrógeno soluble en agua, grasa, cenizas y cloretos. Los datos experimentales obtenidos fueron sometidos al análisis de varianza y las medias comparadas a través del teste Tukey al nivel de 5% de probabilidad. La utilización del extracto hidro alcohólico de propolis influyó en el desarrollo del pH de los salames tratados, provocando un ligero aumento de esos valores en el final del período de maduración, lo que no sucedió en el lote de salames control. En los demás parámetros analizados, las concentraciones de los tratamientos no presentaron diferencia estadística significativa, tampoco se distinguieron de los controles.

Palabras clave: Salame de tipo Italiano; propiedades físico-químicas; propolis.

SUMMARY

The present work had as objective to evaluate physical-chemical characteristics in the Italian dried sausages treated with extract hydro alcoholic of propolis in peculiar concentrations, having in mind its usage as anti fungal. The dried sausages were manufactured in the Department of Technology and Science of Food from the Federal University of Santa Maria and, subsequently, they were divided in five lots, being four treatments and a control. They went deeds four different dilutions for the treatments, being 0,5; 1; 2 and 4% of alcoholic solution of propolis. The treatments

were carried through aspersion of the solutions about the dried sausages. The dried sausages were evaluated in the day from the making (T1), 7° (T2), 14° (T3) and 19° day (T4). It was analyzed the pH, activity of water, humidity, protein, soluble nitrogen in water, fat, ash and NaCl. The analyses went deeds in triplicate and the experimental facts obtained were submitted to the analysis of variance and the medium compared through of him you had of Tukey level with 5% of probability. The utilization of hidroalcoholic extract of propolis influenced in the development of the pH of the treated salamis, causing a light increase of those values in the end of the period of ripening, what did not occur in the control salamis lot. In the too parameters analyzed, the concentrations of the treatments did not result in significant statistical difference, as well as did not they differ of the controls.

Key words: Italian Salami kind; physical-chemistry characteristics; propolis.

1. INTRODUCCIÓN

El salame de tipo italiano es un producto cárnico que consiste de la mezcla de carne grasa, sales, agentes de cura, condimentos y otros, embutido en tripas, fermentado y deshidratado [10]. La gran mayoría de los alimentos fermentados es producida por la actividad de bacterias ácido lácticas, levaduras y también, aunque en menor proporción, por mohos. Frecuentemente, estos microorganismos se encuentran reunidos en los alimentos fermentados; en algunos casos, representantes de los dos grupos actúan en acuerdo para producir un determinado producto, mientras tanto, en otros, uno de los grupos desarrolla la función de causador de la alteración [1]. Los mohos son lipolíticos y proteolíticos, hacen la beta oxidación de los ácidos grasos libres, producen amonía y degradan el ácido láctico, elevando el pH [12]. En cambio, la presencia y el crecimiento de mohos indeseables en alimentos pueden causar pérdidas que pueden resultar en una reducción en cualidad y cantidad. Los defectos indeseables normalmente son ligados al crecimiento de mohos indeseables. El principal efecto de ese grupo es la producción de metabolitos secundarios altamente tóxicos [22], además de alteraciones físico-químicas. Rödel *et al apud* Castro *et al.*, (2000) [4] destacan que el metabolismo fúngico, demasíadamente acentuado, resulta en pH final muy elevado. La microbiota fúngica ejerce actividad degradativa sobre el ácido láctico y en la liberación de amonía[4].

La propolis, nombre genérico para la sustancia resinosa colectada por abejas de varios tipos de plantas [6], está relacionada, entre sus innumerables propiedades, con la función de anti fúngico [13, 17]. Han (1995) propusieron la propolis como conservante natural en productos cárnicos, por su acción sobre los microorganismos y, también por su efecto antioxidante.

El objetivo de este trabajo es verificar la influencia del extracto hidroalcohólico de propolis en diferentes concentraciones en las características físico-químicas del salame de tipo italiano, como también la influencia del crecimiento de mohos en esas características.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Preparación de las muestras

En el preparo del salame de tipo italiano la materia-prima utilizada fue la carne de cerdo en la proporción de 70%, carne vacuna 20% y tocino 10%. Las materias-primas fueron criteriosamente seleccionadas, objetivando tener la máxima calidad con la menor contaminación microbiológica posible. En el laboratorio, las carnes y el tocino fueron cortados en pedazos y triturados en triturador de carne (Marca IMPLÉMIS) con disco de 8,0 mm, siendo que la carne vacuna fue pasada dos veces por el triturador con la finalidad de volverla más homogénea en la pasta. A la carne y al tocino triturados fueron añadidos los ingredientes en las siguientes proporciones: 3,0 % de cloreto de sodio – en la forma de sal de cocina, 0,3 % de sal de cura (nitratos y nitritos de sodio), 0,5 % de glucosa, 0,5 % de sacarosa, 0,2 % de pimienta blanca, 0,5 % de ajo triturado, 0,02 % de nuez moscada y 0,28 % de fijador de color. Fue mezclada manualmente la pasta con el objetivo de que todos los ingredientes fueran debidamente incorporados y la extracción de las proteínas miofibrilares fuera satisfactoria. Después, la pasta fue llevada a la embutidora manual en que fueron embutidas 60 piezas cuyo el peso gira en torno de 300 gramos en tripa natural.

2.2 Tratamientos con propolis

Fueron realizadas cuatro diluciones con el intuito de obtenerse soluciones de propolis con concentraciones finales de 0.5, 1, 2, y 4%. Llevándose en consideración que se partió de una solución alcohólica de concentración 15%, se procedió de la siguiente manera:

Control: 100mL de agua destilada.

Extracto hidro alcohólico de própolis diluido a **0,5%**: 3,4mL própolis + H₂O q.s.p. 100mL.

Extracto hidro alcohólico de própolis diluido a **1%**: 6,8mL própolis + H₂O q.s.p. 100mL.

Extracto hidro alcohólico de própolis diluido a **2%**: 13,6mL própolis + H₂O q.s.p. 100mL.

Extracto hidro alcohólico de própolis diluido a **4%**: 27,2mL própolis + H₂O q.s.p. 100mL.

Esas soluciones debidamente diluidas, y también la solución control, fueron transferidas para frascos aspersores rotulados y calibrados para que la cantidad aspergida fuera igual para todos los frascos. Las piezas fueron tratadas (15 salames para cada tratamiento) individualmente con extracto de propolis y llevadas para la cámara de maduración con humedad relativa del aire y temperatura constantes, para dar continuidad al proceso con la fermentación y deshidratación. El procesamiento del salame fue considerado como concluido cuando ese atingió una actividad de agua de 0,86.

2.3 Análisis físico-químicos

Fueron realizados análisis físico-químicos después del tratamiento en el 1° día (T1), en el 7° día (T2), en el 14° día (T3) y en el final del proceso de maduración del salame en el 19° día(T4). Para cada análisis, fueron tomadas tres piezas de salame de cada lote y de cada pieza fue realizado análisis en triplicada.

2.3.1 Homogeneización de las muestras

Las muestras de salame fueron lonchadas y homogeneizadas en un multiprocesador (Walita, modelo Master Plus RI 3148) con 7,5cm de radio, hasta atingir la consistencia pastosa.

2.3.2 Determinación del pH

Para la determinación del pH se utilizó 50 gramos de salame previamente triturado homogeneizado en 20 mL de agua destilada hervida fría, con lectura posterior en un potenciómetro recientemente calibrado con el auxilio de tapones con pH 4,0 e 7,0 según LANARA [16].

2.3.3 Determinación de la actividad de agua (Aa)

En la determinación de la actividad de agua, se utilizó el proceso de pérdida o ganancia de peso, en ambiente de actividad de agua constante, obtenida con la utilización de soluciones saturadas de bicromato de potasio, cloruro de sodio y carbonato de potasio de acuerdo con TERRA & BRUM [24].

2.3.4 Determinación de la humedad

La metodología utilizada para la pérdida de la humedad fue la de la estufa, descrita por LANARA [16], en la cual se considera la pérdida de agua y sustancias volátiles en una estufa a 105° C hasta peso constante.

2.3.5 Determinación de proteínas

El método de determinación de proteínas es basado en la determinación del nitrógeno total. El nitrógeno total fue determinado a través del método de KJELDAHL que se basa en la transformación del nitrógeno de la muestra en sulfato de amonio a través de la digestión con ácido sulfúrico P.A. y posterior destilación con liberación de amonio que es fijada en solución ácida titulada. Se expresan los resultados en protídios, multiplicándose el porcentaje de nitrógeno total por 6,25, propuesto en la *Instrução Normativa N° 20* [2].

2.3.6 Determinación del nitrógeno soluble en agua

El análisis de nitrógeno soluble en agua fue realizada según BÜTIKOFER *et al.* [3]. Fueron pesados exactamente 10g del homogeneizado de cada muestra y se añadió 50mL de agua destilada. Esta suspensión fue entonces homogeneizada en un triturador mezclador de tipo "ultra-turrax" (Ika-Labortechnik) por 2 min. a 10.000

rpm y colocada en baño-maría por 1 hora a 40°C. Posteriormente fue enfriada por 1 hora a 4°C. En la secuencia, se hizo la centrifugación por 30 min. a 3000 rpm y el filtraje del sobre nadante en filtro de papel cualitativo. 10 mL del filtrado obtenido fueron transferidos para balón de Kjeldahl de 50mL, adicionados de 2g de muestra catalítica (0,5g de sulfato de cobre + 2g de sulfato de potasio) y 5 mL de ácido sulfúrico P.A. siendo el contenido de nitrógeno determinado por el método de Kjeldahl.

2.3.7 Determinación de grasa

Para la determinación de grasa fue utilizado el método del butirómetro según LANARA [16], que se fundamenta en el ataque selectivo de la materia orgánica por medio del ácido sulfúrico, con excepción de la grasa que es separada por centrifugación, auxiliada por el alcohol izo amílico que modifica la tensión superficial.

2.3.8 Determinación de residuo mineral fijo (cenizas)

La determinación de cenizas fue realizada de acuerdo con el LANARA [16] y se fundamenta en la pérdida de peso que ocurre cuando el producto es incinerado a 500 – 550°C, con la destrucción de la materia orgánica, sin apreciable descomposición de los constituyentes del residuo mineral o pérdida por volatilización.

2.3.9 Determinación de cloretos

Se utilizó el método de Mohr modificado de acuerdo con TERRA & BRUM [24], en el cual se fundamenta en la precipitación de los cloretos bajo la forma de cloreto de plata, en pH 8,3, en presencia de cromato de potasio como indicador.

2.4 Análisis de los datos

Los datos experimentales fueron obtenidos de análisis en triplicada de 5 diferentes lotes. El método estadístico consistió en el análisis de varianza (ANOVA) para el modelo enteramente casualizado, de experimento en esquemas factoriales.

Se aplicó el teste de Tukey para la comparación de las medias y localización de las diferencias significativas al nivel de 5% ($\alpha = 0,05$).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La reducción del agua libre auxilia en la conservación del producto cárnico, como también influye en la textura [20]. Observándose los resultados de este experimento (*Figura 1*) y comparándoles con el Padrón de Calidad e Identidad del salame de tipo Italiano [2], que permite el máximo de 0,90 de actividad de agua, todos los tratamientos presentaron un valor dentro del previsto en la legislación. Pero, están un poco abajo de lo que recomienda Terra [27], que dice que la fabricación del salame es considerada concluida cuando el valor de actividad de agua atinge el valor de 0,87, lo que indica perjuicio en la textura del producto. Los valores encontrados en el 19º día de fabricación, donde los salames fueron considerados concluidos, están entre 0,83 e 0,85, sin diferencia significativa entre los tratamientos. Cavenaghi & Oliveira [5] analizaron salame de tipo italiano fabricado en Brasil y encontraron valores de actividad de agua que oscilaron entre 0,816 e 0,868, mientras tanto Metaxopoulos et al. [19], trabajando con el mismo producto, encontraron una actividad de agua de aproximadamente 0,89.

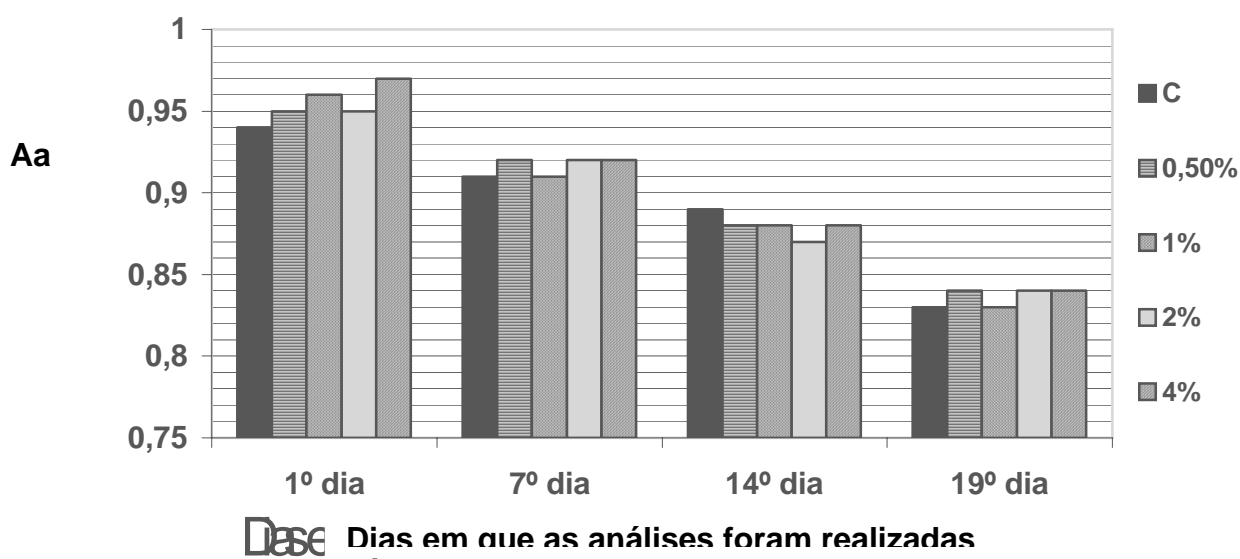


FIGURA 1. Valores de actividad de agua en los salames tratados con propolis y en los controles desde el día de la fabricación hasta el final de la maduración. *Letras iguales significan que no hubo diferencia estadística significativa entre las muestras.

El valor de pH es de fundamental importancia para inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos y causadores de alteraciones [15, 1], además de la obtención de adecuada consistencia, color y aroma [25]. En salames italianos, la reducción del pH ocurre de manera continua, ateniendo valores de 5,2 – 5,3 después de dos ó tres semanas de proceso [21]. La *Figura 2* representa los valores de pH obtenidos en el transcurrir del período de maduración. Los valores encontrados en este trabajo en el 19º día, cuando se concluyó el proceso de fabricación del salame, presentaron un pH que osciló de 5,5 a 5,6 mientras que datos fornecidos por Ordóñez *et al.* [20] indican que el pH final ideal del salame debe girar en torno de 5,2 a 5,4. Ocurrió, aún, una discreta elevación de los valores de pH en la tercera semana de maduración en los lotes tratados con propolis, que podría ser atribuida, en parte, por el crecimiento de hongos filamentosos en la superficie del producto, lo que podría ejercer una acción degradante sobre el ácido láctico y liberación de amonía [4]. Pero, el lote control presentó crecimiento fúngico superior a los lotes tratados, lo que lleva a creer que otros factores puedan haber influido en ese parámetro, como la influencia del propolis sobre las bacterias ácido lácticas.

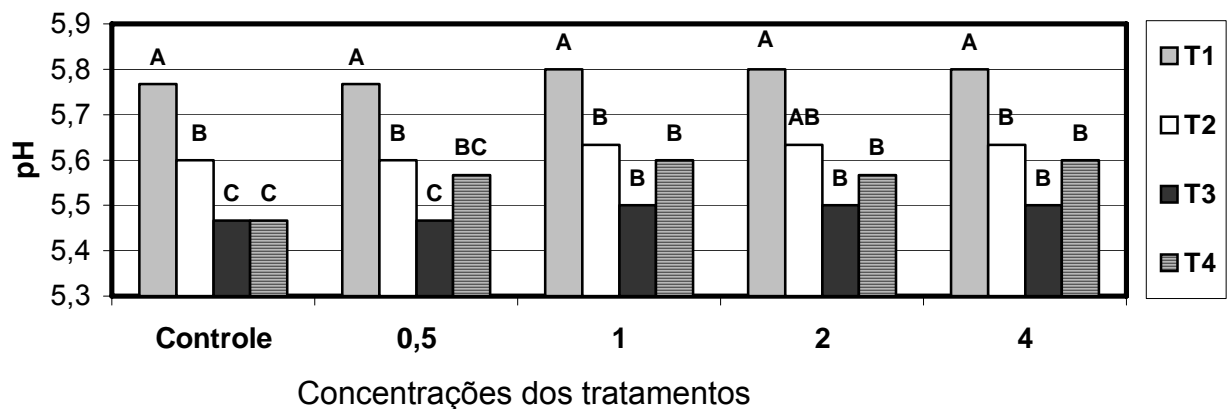


FIGURA 2. Valores del desarrollo del pH en los salames tratados con propolis y en los controles desde el día de la fabricación (T1) hasta el final de la maduración (T4).

*Letras iguales significan que no hubo diferencia estadística significativa entre las muestras.

La humedad es uno de los factores extrínsecos a ser controlado con el propósito de obtenerse y mantener un producto con sus características organolépticas durante un largo tiempo[23]. Una perfecta cobertura de hongos sobre la superficie de los salames auxilia en una pérdida de humedad más homogénea, de forma lenta y progresiva, actuando en la disminución de la formación de costra en la

superficie de los embutidos[4].. La evolución de la humedad en los diversos salames tratados con diferentes concentraciones de propolis es presentada en la *Tabla 1*. Los resultados obtenidos en el grupo control y en los tratamientos con propolis muestran una reducción final en el índice de humedad que gira en torno de 51%. Esta reducción de humedad fue gradual y en el análisis final presentó valores que oscilaron de 28,30 a 32,31, no revelando diferencia significativa. Estos datos confirman la afirmación de Galli [11] y Martins & Luchese [18], pues, según ellos, el proceso de secado suele remover 40 a 60% de humedad inicial, resultando en una humedad final 25 a 40%.

Tabla 1. Resultados de los análisis físico-químicos de las muestras de salame de tipo italiano tratados con solución hidroalcohólica de propolis en diferentes concentraciones y muestras control durante el período de maduración.

Tiempo (días)/						
Concentración	Humedad (g%)	Proteína (g%)	NSA**	Grasa (g%)	Cloretos(g%)	Cenizas(g%)
T₁						
C	63,20±0,64 ^a	18,32±0,34 ^a	0,16±0,00 ^a	12,79±1,67 ^a	2,96± 0,06 ^a	4,38±0,27 ^a
0,5%	63,13±1,25 ^a	26,72±8,24 ^{ab}	0,16±0,01 ^a	12,06±1,33 ^a	2,95± 0,14 ^a	4,35±0,15 ^a
1%	62,58±1,65 ^a	16,60±1,26 ^{ab}	0,16±0,00 ^a	14,99±0,96 ^a	3,02± 0,22 ^a	4,40±0,08 ^a
2%	63,19±1,47 ^a	18,66±4,03 ^{ab}	0,17±0,01 ^a	13,33±0,92 ^a	2,79± 0,23 ^a	4,38±0,21 ^a
4%	59,19±7,07 ^a	14,59±2,12 ^b	0,16±0,00 ^a	13,34±1,99 ^a	2,99± 0,23 ^a	4,45±0,03 ^a
T₂						
C	47,18±2,02 ^a	22,41±2,62 ^a	0,23±0,00 ^a	15,71±0,49 ^c	4,54± 0,04 ^a	6,77±0,22 ^a
0,5%	45,26±5,78 ^a	25,25±3,54 ^a	0,24±0,00 ^a	16,54±1,23 ^{bc}	4,85± 0,60 ^a	6,72±0,02 ^a
1%	45,14±0,05 ^a	23,51±4,73 ^a	0,25±0,01 ^a	19,77±2,19 ^b	4,96± 0,22 ^a	6,85±0,23 ^a
2%	44,25±1,60 ^a	27,47±0,88 ^a	0,25±0,01 ^a	23,75±1,23 ^a	5,30± 0,64 ^a	6,99±0,39 ^a
4%	45,60±2,09 ^a	23,75±1,38 ^a	0,26±0,03 ^a	19,28±0,99 ^b	5,18± 0,13 ^a	6,71±0,22 ^a
T₃						
C	37,56±2,08 ^a	28,26±6,51 ^a	0,26±0,01 ^a	22,53±2,30 ^a	6,21± 0,88 ^a	7,91±0,60 ^a
0,5%	34,06±6,56 ^a	35,14±1,41 ^a	0,28±0,02 ^a	27,10±0,37 ^b	6,52± 1,21 ^a	7,61±0,23 ^a
1%	36,70±1,74 ^a	29,72±1,51 ^a	0,27±0,03 ^a	25,19±1,79 ^{ab}	6,09± 0,51 ^a	7,98±0,16 ^a
2%	35,75±2,59 ^a	31,02±1,54 ^a	0,26±0,03 ^a	23,19±1,19 ^{ab}	6,80± 0,36 ^a	8,02±0,31 ^a
4%	36,84±1,06 ^a	30,37±2,20 ^a	0,29±0,01 ^a	24,64±1,44 ^{ab}	7,30± 1,28 ^a	7,85±0,42 ^a

T₄							
C	32,31±0,72 ^a	33,50±3,32 ^a	0,30±0,02 ^a	25,27±0,92 ^a	6,25± 0,37 ^a	8,58±0,10 ^a	
0,5%	28,94±0,48 ^a	33,05±1,92 ^a	0,29±0,00 ^a	26,41±1,05 ^a	6,83± 1,62 ^a	8,67±0,04 ^a	
1%	29,22±0,61 ^a	30,83±1,05 ^a	0,31±0,01 ^a	26,18±1,71 ^a	6,38± 0,30 ^a	8,84±0,04 ^a	
2%	30,53±0,53 ^a	31,67±1,27 ^a	0,30±0,01 ^a	26,93±0,81 ^a	6,60± 0,48 ^a	8,70±0,37 ^a	
4%	28,30±3,61 ^a	32,33±2,80 ^a	0,31±0,02 ^a	27,51±1,62 ^a	6,90± 1,00 ^a	8,51± 0,27 ^a	

*Medias en la misma columna, seguidas de letras iguales, no presentan diferencia significativa entre si ($p>0,05$).

**Nitrógeno soluble en agua.

Los resultados relativos a la proteína presente en los salames control y tratados (*Tabla 1*) presentaron una pequeña variación en el primer análisis que puede ser atribuida a fallas en la ejecución de la técnica de cuantificación, considerándose que los demás análisis no denotaron diferencia estadística significativa. Los resultados obtenidos para proteína oscilaron entre 30,83 e 33,50%. Los datos encontrados están de acuerdo con la legislación vigente [2] que determina para el salame de tipo italiano el mínimo de 25% de proteína.

Los niveles de nitrógeno soluble en agua (NSA) en los salames control y tratados aumentaron de forma más acentuada en la primera semana de maduración y fueron aumentando de forma gradual hasta el final del proceso de fabricación. En cambio, transcurrido el tiempo de maduración, los valores entre los salames tratados y controles no presentaron diferencia significativa al nivel de 5% (*Tabla 1*). Los resultados obtenidos representan aumento final en los niveles de NSA, lo que puede ser justificado por la proteólisis que ocurre en el transcurrir del proceso de maduración, en el cual las proteasas hidrolizan las proteínas a polipéptidos y las peptidasas descomponen estos polipéptidos a pequeños péptidos y aminoácidos libres que son solubles en agua. Estos datos son semejantes a los obtenidos por DEMEYER *et al.* [8].

La *Tabla 1* presenta los resultados obtenidos en la determinación del índice de grasa de los salames italianos. Los análisis realizados en los tiempos de 7 e 14 días presentaron diferencia significativa entre los tratamientos, lo que puede haber sucedido en función de la falta de homogeneidad de las muestras colectadas para la cuantificación. Los resultados finales oscilaron entre 25,27 e 27,51% no

presentando diferencia significativa, ubicándose entre los valores establecidos por la legislación que determina para el salame de tipo Italiano el máximo de 32% de grasa [2]. Coelho [7] analizando salame de tipo italiano sumado de diferentes porcentuales de cuero cocido encontró valores de grasa próximos a 25%. Así como Cavenaghi & Oliveira [5] que analizaron salames de tipo italiano fabricados en Brasil y encontraron un índice medio de grasa de 24,85% en estos.

La adición de cloreto de sodio en las formulaciones de los salames es, normalmente, de 2,0 a 3,5%, aunque se deba tener en consideración que estos valores oscilan mucho de acuerdo con la zona geográfica y los criterios de cada salamero. Concentraciones inferiores a 2,0% de sal dificultan la obtención de una buena pasta cárnica y acima de 3,0% inhiben la actividad de las bacterias lácticas, lo que puede causar el prolongamiento del tiempo de maduración y permitir el desarrollo de microorganismos tolerantes a la sal [26]. Las medias de los valores encontrados en ese trabajo (*Tabla 1*) en el primer análisis, que corresponde a la pasta inicial del salame, están de acuerdo con los valores sugestionados por la literatura. En el final del proceso de maduración, los valores de cloretos se quedaron entre 6,25 e 6,90%, debajo de los valores que Metaxopoulos *et al.*[19] encontraron trabajando con salame de tipo Italiano, que fue un valor medio de 10% de cloretos en los productos.

La legislación vigente [2] no determina valores mínimos o máximos para la cantidad de cenizas o residuo mineral fijo en salames de tipo italiano. El análisis estadístico comprobó que no hubo distinción significativa entre los salames tratados con propolis y el grupo control(*Tabla 1*). El aumento de los valores de residuo mineral fijo ocurrió de forma gradual durante el período de maduración atingiendo valores finales que oscilaron entre 8,51 a 8,84. Ese aumento de los valores de ceniza ocurre en consecuencia de la disminución de los valores de otros parámetros, como la humedad y la actividad de agua de cenizas o residuo mineral fijo en salames de tipo Italiano.

4. CONCLUSIONES

- La utilización de extracto hidro alcohólico de propolis influyó en el desarrollo del pH de los salames tratados, causando un ligero aumento de esos valores en el final del periodo de maduración, lo que no sucedió en el lote de salames control. En los demás

parámetros analizados, las concentraciones de los tratamientos no resultaron en diferencia estadística significativa.

5. BIBLIOGRAFÍA

- [1] ADAMS, M. R. & MOSS, M. O. **Microbiología de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 464p, 1997.
- [2] BRASIL. Instrução normativa n.22, de 31 de julho de 2000. Regulamentos técnicos de identidade e qualidade de salame tipo Italiano. Publicada no Diário oficial da União de 03/08/2000.
- [3] BUTIKÖFER, U.; RUEGG, M. & ARDO, Y. Determination of nitrogen fractions in cheese: evaluation of collaborative study. **Lebesm-Wiss Technology**, nº26, p. 271-75, 1993.
- [4] CASTRO, L. C.; LUCHESE, R. H.; MARTINS, J. F. P. Efeito do uso de cepa starter de *Penicillium nalgiovense* na qualidade de salames. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**. v. 20 n. 1 Campinas. Apr. 2000.
- [5] CAVENAGHI, A.D. & OLIVEIRA, M. N. Influência de algumas características físico-químicas e sensoriais na qualidade de salame tipo Italiano fabricado no Brasil. **Revista Nacional da Carne**, n.263, p. 44-48, janeiro de 1999.
- [6] CHEMID. A chemical database sponsored by the **National Library of Medicine**. Bethesda, MD, 1996.
- [7] COELHO, H. S. O couro suíno cozido na elaboração de salame tipo Italiano. Santa Maria: UFSM, 1999. 89f. **Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos)** – Universidade Federal de Santa Maria, 1999.
- [8] DEMEYER, D.; HOOZEE, J. & MESDOM, H. Specificity of lipolysis during dry sausage ripening. **Journal Food Science**. 39:293-296, 1974.
- [9] DEMEYER, D.; RAEMAEEKERS, M.; RIZZO, A.; *et alii*. Control of bioflavour and safety in fermented sausage: first results of a European project. **Food Research International**. v.33, p. 171-180, 2000.
- [10] FERNÁNDEZ, M.; ORDÓÑEZ, J.; BRUNA, J. M.; HERRANZ, B. *et alii*. Accelerated ripening of dry fermented sausages. **Food Science & Technology**. 11:201-209, 2001.
- [11] GALLI, F. Os embutidos. Como fabricá-los. **Revista Nacional da Carne**, p. 14-28, abril de 1993.

- [12] GEISEN, R.; LÜCKE, F. K. & KRÖKEL, L. Starter and protective cultures for meat and meat product. **Fleischwirtsch.** v. 72, p. 894-898, 1992.
- [13] GHISALBERTI, E. L. Própolis: a review. **Bee World**, n.60, p. 59-84, 1979.
- [14] HAN, S. K. A study on the preservation of meat products by natural propolis: effect of EEP on protein change of meat products. **Korean Journal of Animal Science**, n. 37, p. 551–557, 1995.
- [15] JAY, J. **Microbiología Moderna de los Alimentos**. 3. Ed. Zaragoza, Espanha: Editorial Acribia S.A., 1994. p. 804.
- [16] LANARA (Laboratório Nacional de Referência Animal) – **Coordenadoria de Laboratórios, Brasília – DF** – setembro, 1981.
- [17] MARCUCCI, M. C. Propolis: Chemical composition, biological properties and therapeutic activity. **Apidologie**, n.26, p. 83-99, 1995.
- [18] MARTINS, J. F. P. & LUCHESE, R. H. **Aspectos biotecnológicos do processamento de produtos cárneos fermentados**, In: CURSO SOBRE BIOTECNOLOGIA DE PROCESSAMENTO DE SALAMES E OUTROS EMBUTIDOS CURADOS, Universidade Federal de Santa Maria, p. 52, 1985.
- [19] METAXOPOULOS, J.; GENIGEORGIS, C.; FANELLI, M. J. *et alii*. Production of italian dry salami. I – Initiation of staphylococcal growth in salami under commercial manufacturing conditions. **Journal of Food Protection**, v.44, n.5, p. 347 – 352. 1995.
- [20] ORDÓÑEZ, J. A.; HIERRO, E. M.; BRUNA, J. M. *et alii*. Changes in the components of Dry-fermented Sausages during ripening. **Food Science and Nutrition**. v. 39, p. 329-367, 1999.
- [21] PALMIA, F. Salames e embutidos: os fermentados. **Revista Nacional da Carne**. n.259, p. 71-73. 1998.
- [22] SAMSON, R.A.; HOEKSTRA, E.S.; FRISVAD, J.C. *et alii*. Introduction to food-borne fungi. **Centraal bureau voor Schimmelcultures**, Baam, 1995.
- [23] SIQUEIRA, S. **Manual de microbiologia de alimentos**. Brasília: Embrapa, 1995. p. 159.
- [24] TERRA, N. N. & BRUM, M. A. R. **Carne e seus derivados: técnicas de controle de qualidade**. São Paulo: Nobel, 1988. 121p.
- [25] 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.

[26] __. Fermentação cárnea. **Revista Nacional da Carne**, n. 233, p. 10, julho de 1996.

[27] __. **Apontamentos de Tecnologia de Carnes**. São Leopoldo: Ed. UNISINOS, 1998.

3.2. Artigo 2

INFLUÊNCIA DA UTILIZAÇÃO DE EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE PRÓPOLIS NA FORMAÇÃO DE MOFOS E NAS CARACTERÍSTICAS SENSORIAS DO SALAME TIPO ITALIANO¹

Rosiele LAPPE², Ana M. DREHMER², Ernesto H. KUBOTA^{5,*}, Nelcindo N. TERRA⁵, Luisa H. R. HECKTHEUER⁵, Paulo C. CAMPAGNOL³, Édson TONETTO⁴

Submetido à Revista Higiene Alimentar

¹ Manuscrito recebido em

² Pós-Graduação em Tecnologia e Ciência dos Alimentos, CCR, UFSM.

³ Graduação em Farmácia e Bioquímica, CCS, UFSM.

⁴ Medicina Veterinária, CCR, UFSM.

⁵ Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil. *E-mail:ernehk2008@yahoo.com.br.

* A quem a correspondência deve ser enviada.

INFLUÊNCIA DA UTILIZAÇÃO DE EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE PRÓPOLIS NA FORMAÇÃO DE MOFOS E NAS CARACTERÍSTICAS SENSORIAS DO SALAME TIPO ITALIANO

RESUMO

O desenvolvimento de fungos filamentosos na superfície dos salames durante a maturação é considerado um fator de qualidade que deve complementar mudanças bioquímicas envolvidas na maturação do produto. Muitos destes fungos podem, no entanto, ocasionar alterações de cor e sabor e o ataque ao envoltório, como também representar um problema de saúde pública pelas toxinas que podem produzir. Este trabalho objetivou avaliar a eficiência da utilização de extrato hidroalcoólico de propólis em diferentes concentrações no controle da formação de fungos tendo em vista suas propriedades antifúngicas e, ainda, o efeito geral sobre parâmetros sensoriais. Foram avaliados salames produzidos no Departamento de Tecnologia e Ciência de Alimentos, em escala piloto, os quais foram maturados por 19 dias à temperatura de 22°C e Umidade Relativa de Equilíbrio entre 70 e 80%. Foi feita a contagem de bolores e leveduras no primeiro dia, no 7º, no 14º e no 19º dia que representou o final do processo de maturação. A análise sensorial foi realizada no final do processo, bem como a contagem de *Estafilococos coagulase positiva*, coliformes totais e coliformes fecais. As amostras tratadas com o extrato hidroalcoólico de propólis mostraram, ao término do período de maturação, uma diminuição na contagem de bolores e leveduras em relação aquelas não tratadas. Esta diferença revelou-se não significativa ao nível de 5%, porém deve-se levar em consideração o número de ciclos logarítmicos em questão. Nas análises microbiológicas não foi detectada a presença de coliformes fecais. As contagens de coliformes totais e *Estafilococos coagulase positiva* encontraram-se dentro dos valores considerados aceitáveis pela legislação brasileira vigente para o salame tipo Italiano.

Palavras-chave: salame tipo Italiano, propólis, mofo, parâmetros sensoriais.

SUMMARY

The growth of filamentous fungi on the surface of salami during ripening is an important factor for the product quality because it helps the biochemical changes involved in the process. Nevertheless, some of these fungi can cause problems

related to discoloration and off-flavor, as well as damage on the casings. In addition, some fungi are associated to health hazards due to toxin production. This work aimed to study the ability from the utilization of hydro alcoholic extract of propolis in different concentrations in the control on the development of moulds having in its mind estates antifungal and, still, the general effect about sensory properties. It was evaluated salamis produced in the Department of Science and Technology of Food, in pilot scale, which were ripeness for 19 days to the temperature of 22°C and Humidity Relative of Equilibrium between 70 and 80%. Deed counts of moulds went and yeasts in the first day, in the 7^o, in the 14^o and in the 19^o days that represented the end of the ripening. The sensorial analysis was carried out in the end of the trial, as well as counts of Staphylococcus coagulase positive, total coliforms and coliforms at 45°C. The treated samples with the hydro alcoholic extract of propolis showed, to the term of the period of ripening, a decrease in the counts of moulds and yeasts in relation those not treated. This difference revealed itself not significant level with 5%, however must lead itself in consideration the number of logarithmic cycles in question. In the microbiological analyses it was not detected the presence of coliforms at 45°C. The counts of total coliforms and positive Staphylococcus coagulase were found inside the values considered acceptable by the Brazilian legislation in force for the Italian salami kind.

Keywords: Italian salami kind, propolis, moulds, sensory properties.

1. Introdução

No Brasil, a introdução de embutidos crus fermentados, como salame, tem sua origem na colonização de imigrantes alemães e italianos, principalmente na região sul do país, onde a industrialização desses produtos constitui um importante segmento da indústria de derivados cárneos.

O desenvolvimento de fungos filamentosos na superfície de salames é considerado 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. Entretanto, a inexistência de complexos climatizados em muitas 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 (Andersen, 1995; Leistner & Pitt, 1977).

Embora a definição das vias bioquímicas envolvidas no processo de qualificação não esteja completamente elucidada, considera-se que ocorra um enriquecimento qualitativo e quantitativo dos salames em elementos aromáticos e de sabor, em consequência do metabolismo lipídico e protéico da microbiota fúngica, na superfície dos salames em processos de maturação (Demeyer *et al.*, 1974). Ademais, o crescimento de fungos desejáveis previne os efeitos adversos do oxigênio (rancificação e descoloração) e permite uma secagem mais uniforme (Dragoni & Cantoni, 1984). Adicionalmente, implica na degradação de ácido láctico, importante fator do "flavor" desse tipo de produto (Rodel *et al.*, 1994).

Alguns artifícios são utilizados para fazer o controle do desenvolvimento fúngico na superfície de salames, como aditivos químicos e a inoculação de culturas "starters" de mofos objetivando que estas impeçam o crescimento de mofos indesejáveis.

A própolis é conhecida por possuir propriedades antissépticas, antimicóticas, bacteriostáticas, adstringentes, coleréticas, espasmolíticas, antiinflamatórias, anestésicas e propriedades de antioxidante, sua lista de preparações e usos é quase infinita (Ghisalberti, 1979; Marcucci, 1995).

Há um número de estudos documentando as funções biocidas da própolis, de seus extratos e constituintes. A atividade, relativamente ampla, está relacionada a microrganismos Gram⁺ e Gram⁻ e coccus, leveduras e fungos, entre eles organismos associados com vários graus de patogenicidade em homem e outros animais, incluindo o bacilo da tuberculose humana.

Pepeljnjak *et al.* (1982), demonstraram que o extrato de própolis foi eficaz na inibição da elaboração de toxinas (e.g. ocratoxina A por *Aspergillus sulphureus*). Eles utilizaram o extrato etanólico de própolis em *Aspergillus sulphureus* e observaram que na concentração de 2,0 mg/mL de própolis, o mesmo exibiu atividade fungistática. Park *et al.* (1999) verificou que o extrato etanólico de própolis

com 3 e 4 gramas por litro reduz a percentagem de germinação e a produção de aflatoxina em *Aspergillus flavus*. Zeppa & Dolci (2002) utilizaram a própolis para o controle superficial de mofos em queijos de curta e média maturação, observando que a casca tratada com solução hidro-alcoólica de própolis em altas concentrações (>1,5g/L), o crescimento fúngico foi superficial ou nenhum.

Este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da utilização do extrato hidroalcoólico de própolis em diferentes concentrações na superfície de salames tipo Italiano, investigando sua contribuição no controle da formação de fungos e seus incrementos qualitativos nos aspectos sensoriais característicos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Preparação das amostras

No preparo do salame tipo italiano a matéria-prima utilizada foi carne suína na proporção de 70%, carne bovina 20% e toucinho 10%. As matérias-primas foram criteriosamente selecionadas, buscando-se a máxima qualidade com a menor contaminação microbiológica possível. No laboratório, as carnes e o toucinho foram cortados em pedaços e moídos em moedor de carne (Marca IMPLMIS) com disco de 8,0 mm, sendo que a carne bovina foi passada duas vezes pelo moedor com a finalidade de melhor homogeneizá-la na massa. À carne e ao toucinho moídos foram adicionados os ingredientes nas seguintes proporções: 3,0 % de cloreto de sódio – na forma de sal de cozinha, 0,3 % de sal de cura (nitratos e nitritos de sódio), 0,5 % de glicose, 0,5 % de sacarose, 0,2 % de pimenta branca, 0,5 % de alho moído, 0,02 % de noz moscada e 0,28 % de fixador de cor. Misturou-se manualmente a massa a fim de que todos os ingredientes fossem devidamente incorporados e a extração das proteínas miofibrilares fosse satisfatória. Após, a massa foi levada a embutideira manual onde foram embutidas 60 peças com peso em torno de 300 gramas em tripa natural.

2.2 Tratamentos com própolis

Foram realizadas quatro diluições com o intuito de se obter soluções de própolis com concentrações finais de 0,5, 1, 2, e 4%. Considerando que se partiu de uma solução alcoólica de concentração 15%, procedeu-se da seguinte forma:

Controle: 100mL de água destilada.

Extrato hidroalcoólico de própolis diluído a **0,5%**: 3,4mL própolis + H₂O q.s.p. 100mL.

Extrato hidroalcoólico de própolis diluído a **1%**: 6,8mL própolis + H₂O q.s.p. 100mL.

Extrato hidroalcoólico de própolis diluído a **2%**: 13,6mL própolis + H₂O q.s.p. 100mL.

Extrato hidroalcoólico de própolis diluído a **4%**: 27,2mL própolis + H₂O q.s.p. 100mL.

Essas soluções devidamente diluídas, bem como a solução controle, foram transferidas para frascos aspersores rotulados e calibrados para que a quantidade aspergida fosse igual para todos os frascos. As peças foram tratadas (15 salames para cada tratamento) individualmente com extrato de própolis e levadas para a câmara de maturação com umidade relativa do ar e temperatura constantes, para dar continuidade ao processo com a fermentação e desidratação. O processamento do salame foi dado como concluído quando esse atingiu uma atividade de água de 0,86.

2.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

As contagens de bolores e leveduras foram realizadas no dia da fabricação do salame (T1), no 7º dia (T2), no 14º dia (T3) e no 19º dia (T4), onde o produto foi considerado pronto. As contagens de coliformes totais, coliformes fecais e Estafilococos coagulase positiva, bem como a análise sensorial, foram realizadas no 19º dia (T4)

2.3.1 Contagem de bolores e leveduras

A contagem de Bolores e Leveduras foi realizada com base na verificação destes microrganismos em se desenvolverem em meios de cultura com pH próximo a 3,5 e temperatura de incubação de 25°C. A utilização de meios acidificados a pH 3,5, promove seletivamente o crescimento de fungos inibindo a maioria das bactérias presentes no alimento (LANARA, 1999).

2.3.2 Contagem de Coliformes Totais

A contagem de Coliformes Totais foi realizada em meio Agar Cristal Violeta Vermelho Neutro Bile, Merck nº. 1406, com temperatura de incubação de 37°C por 48 horas (LANARA, 1999).

2.3.3 Contagem de Coliformes Fecais

A identificação dos Coliformes Fecais foi efetuada após a repicagem de colônias de Coliformes para meio seletivo para *Escherichia coli* (caldo EC), incubadas a 44,5°C por 48 horas, observando-se a produção de gás pelas colônias de Coliformes Fecais (LANARA, 1999).

2.3.4 Enumeração de Estafilococos coagulase positiva

Semeou-se em duplicata, sobre a superfície do ágar Baird Parker contido nas placas de Petri, 0,1 mL de cada diluição escolhida, com o auxílio de alça ou espátula de Drigalsky. O inóculo (0,1 mL) foi cuidadosamente espalhado por toda a superfície do meio até a sua total absorção. A seguir, as placas de Petri foram incubadas a 37°C por 24-48 horas. Calculou-se, de acordo com as diluições, as unidades formadoras de colônia que se apresentaram negras, brilhantes, convexas e rodeadas por zonas claras (atípicas). Foram selecionadas três colônias de cada placa e então submetidas aos testes bioquímicos de confirmação (Staphytest Plus Test DR850 Oxoid®) (LANARA, 1999).

2.4 Análise sensorial

Para a avaliação sensorial foi utilizado o teste de aceitabilidade, avaliando-se os atributos de aparência, aroma, cor, fatiabilidade, sabor e textura dos produtos obtidos no final da maturação através do teste de escala hedônica estruturada de 9 pontos, onde 9 representava a nota máxima “gostei muitíssimo” e 1 a nota mínima “desgostei muitíssimo” (Monteiro, 1984; Moraes, 1988), aplicado a 15 provadores não treinados. As amostras dos produtos foram apresentadas aos provadores em sala própria do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos da UFSM, à temperatura ambiente ($26^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$), servidas em pratos plásticos codificados aleatoriamente. Os provadores foram orientados a observar as características pedidas e o preenchimento das fichas de respostas.

3. Resultados e discussão

3.1 Efeitos dos tratamentos com própolis sobre o desenvolvimento de mofos

A observação visual revelou que o desenvolvimento fúngico nos salames tratados com própolis foi menos pronunciado do que nos que não sofreram o tratamento. Após 7 dias de maturação, diferentemente do que se observou nas amostras tratadas, os salames não tratados se encontravam parcialmente cobertos por um crescimento fúngico que apresentava manchas de coloração esverdeada. No final do período de maturação, observou-se que o crescimento fúngico nos salames não tratados revelou uma coloração esverdeada a escura enquanto nos salames tratados permaneceu a presença de mofos brancos, com raras exceções para algumas manchas esverdeadas de pequeno tamanho que podem ser justificadas por falhas no processo de borrifamento da solução sobre as peças, fazendo com que a cobertura pela própolis não fosse total. Entre os fungos filamentosos que formam conídeos esverdeados estão vários toxigênicos e o *Penicillium chrysogenum*. Micotoxinas como roquefortina C e PR toxina, produzidas por *P. chrysogenum* já foram detectadas em queijos (Samson & Reenen-Hoekstra, 1988). Este fungo também é capaz de produzir crisogina, ácido emólico e penicilina (Andersen, 1995).

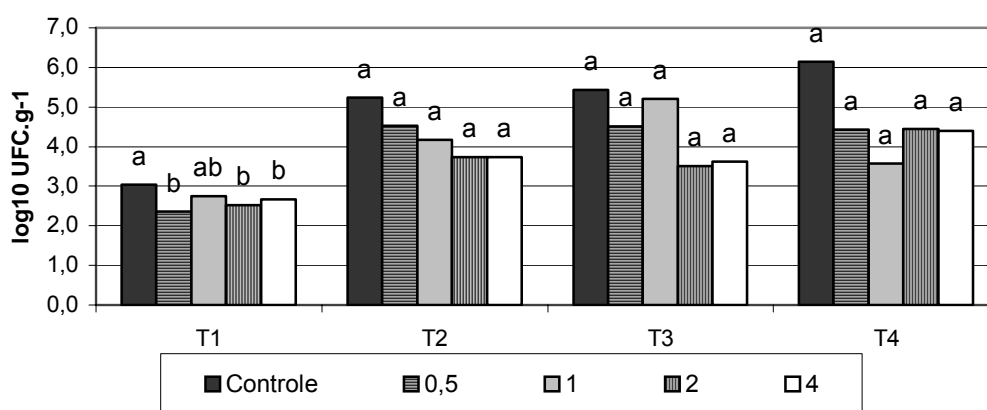


Figura 1. Resultados das análises de bolores e leveduras no salame tipo Italiano nas amostras controle e tratadas com própolis nas concentrações de 0,5, 1, 2 e 4% no decorrer do período de maturação.

*Letras iguais significa que não houve diferença estatística significativa entre as amostras.

Através da *Figura 1*, pode-se verificar que o desenvolvimento do crescimento fúngico não revelou diferença estatística significativa ao nível de 5% entre os salames tratados com própolis e o grupo controle, porém deve-se considerar a

diferença de ciclos logarítmicos entre os grupos e analisar, sob o ponto de vista microbiológico, a importância dessas diferenças para poder, assim, verificar a eficiência do tratamento com própolis sobre o desenvolvimento dos mofo. Os tratamentos com soluções hidroalcoólicas de própolis nas concentrações de 2 e 4% mostraram-se igualmente efetivos no controle do crescimento fúngico sobre a superfície dos salames, já os tratamentos com concentrações mais baixas da solução, apesar de apresentarem uma contagem maior de colônias de fungos, também se apresentaram eficientes quando comparados ao controle, que teve crescimento de um maior número de colônias no decorrer de todo processo de maturação.

A cobertura com mofo no salame tipo Italiano deve ser uniforme, esbranquiçada ou acinzentada, e isenta de manchas esverdeadas, marrons ou negras. Os mofo branco ou cinza são, principalmente, representantes do gênero *Penicillium* e, algumas vezes, de *Scopulariopsis*. Os mofo verde são também *Penicillium* ou *Aspergillus*. As manchas marrons ou pretas são causadas por *Cladosporium*, *Alternaria* ou *Aspergillus* (Leistner & Ayres, 1967). Além disso, algumas espécies de *Penicillium* (*P. stoloniferum*) têm sido identificadas como causadoras de escurecimento em peças de salame (Dragoni, Cantoni & Spada, 1986). 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, 1995). Considerando-se que cerca de 70-80% dos penicilios são produtores potenciais de micotoxinas (Eckardt, 1979; Leistner & Pitt, 1977), é de se esperar que, com frequência, sejam encontradas cepas de penicilios toxigênicos em salames.

3.2 Coliformes Totais, Coliformes Fecais e Estafilococos coagulase positiva

As análises de coliformes e estafilococos coagulase positiva foram realizadas para verificar as condições de higiene do produto. Não foi detectada a presença de coliformes fecais nas amostras. As contagens de coliformes totais e estafilococos coagulase positiva encontraram-se dentro dos limites permitidos pela legislação vigente para o salame tipo Italiano (Brasil, 2000).

3.3 Aspectos Sensoriais

A avaliação sensorial mostrou que os salames tratados e não tratados com extrato hidroalcoólico de própolis, bem como as diferentes concentrações dos tratamentos, resultaram em produto de qualidade organoléptica semelhante (*Tabela 1*). A textura foi o único parâmetro que apresentou diferença estatística significativa ($p < 0,05$) mostrando maior aceitabilidade aos tratamentos de 2 e 4%.

TABELA 1. Médias das notas atribuídas pelos provadores no teste de aceitabilidade (escala hedônica 1-9 pontos) dos salames controles e tratados com soluções hidroalcoólicas de própolis nas concentrações de 0,5, 1, 2 e 4%.

Atributos	Controle	0,5%	1%	2%	4%
Aparência	7,64 ^a	6,79 ^a	6,71 ^a	6,64 ^a	7,36 ^a
Aroma	7,07 ^a	5,71 ^a	6,21 ^a	6,21 ^a	6,50 ^a
Cor	7,50 ^a	6,86 ^a	6,64 ^a	6,64 ^a	7,29 ^a
Fatiabilidade	6,86 ^a	7,00 ^a	7,00 ^a	7,29 ^a	7,21 ^a
Sabor	7,93 ^a	6,43 ^a	6,57 ^a	6,43 ^a	6,71 ^a
Textura	6,71 ^{ab}	6,43 ^b	6,93 ^{ab}	7,21 ^{ab}	7,57 ^a

* Médias dentro de uma mesma linha com a mesma letra não são significativamente diferentes entre si, pelo teste de Tukey, a $p \geq 0,05$.

4. Conclusões

- A aplicação de extrato hidroalcoólico de própolis na superfície de salames tipo Italiano mostrou-se eficiente no controle da formação de mofos. O melhor resultado foi obtido com as soluções mais concentradas (2 e 4%), onde o desenvolvimento de colônias brancas foi menor e não ocorreu o crescimento de mofos indesejáveis.
- O tratamento com própolis na superfície do salame tipo Italiano promoveu uma ligeira preferência dos provadores pelo salame tratado com solução a 4% no quesito textura sem, entretanto, atingir níveis que permitam uma diferenciação dos aspectos organolépticos de sabor, aroma, coloração, aparência e fatiabilidade entre peças tratadas e não tratadas com a própolis.

Sendo assim, as variáveis que contribuem para os aspectos organolépticos peculiares dos salames não apresentaram diferenças entre os produtos com e sem tratamento.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSEN, S.J. Compositional changes in surface mycoflora during ripening of naturally fermented sausages. **Journal of Food Protection**, v. 58, p. 426-429, 1995.

BRASIL. Instrução normativa n.22, de 31 de julho de 2000. Regulamentos técnicos de identidade e qualidade de salame tipo Italiano. Publicada no Diário oficial da União de 03/08/2000.

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

DEMEYER, D.; DIRIECK, N. & VANDEKERCKHOVE, P. Changes in nonprotein nitrogen compounds during dry sausage ripening. **Journal of Food Science**, v. 39, p. 301-304, 1974.

DRAGONI, I. & CANTONI, C. Le muffe nei prodotti carnei. **Scienze**, v. 9, p. 74-77, 1984.

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

ECKARDT, C. Vorkommen toxinogener Penicillien bei Fleischerzeugnissen. **Fleischwirtschaft**, v. 59, p. 1892-1896, 1979.

GHISALBERTI, E. L. Própolis: a review. **Bee World**, n.60, p. 59-84, 1979.

LANARA (Laboratório Nacional de Referência Animal) – Métodos de Análise Microbiológica para Alimentos – **Coordenadoria de Laboratórios, Brasília – DF**, capítulo 11, 1999.

LEISTNER, L. & AYRES, J.C. Schimmelpilze und Fleischwaren. **Fleischwirtschaft**, v. 47, p. 1320-1325, 1967.

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.

MARCUCCI, M. C. Propolis: Chemical composition, biological properties and therapeutic activity. **Apidologie**, n.26, p. 83-99, 1995.

MONTEIRO, C.B.L. Técnicas de avaliação sensorial. 2.ed. Curitiba: UFPR/CEPPA, 1984. 1001p.

MORAES, M.A.C. Métodos para avaliação sensorial dos alimentos. 6.ed. Campinas, UNICAMP, 1988.

PARK, Y. K.; ALENCAR, S. M.; MOURA, F. F. *et alii*. Biological activities of propolis. **Revista OESP – Alimentação**, n.27, 1999.

PEPELJNJAK, S.; JALSENJAK, I.; MAYSINGER, D. Inhibition of growth and biosynthesis of ochratoxin A in *Aspergillus sulphureus* NRRL 4077 by propolis extract. **Pharmazie**, n. 37, p. 439-440, 1982.

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. & REENEN-HOEKSTRA, E.S. Van. **Introduction to Foodborne Fungi**. 3° ed. Baarn: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 1988.

SIQUEIRA, S. **Manual de microbiologia de alimentos**. Brasília: Embrapa, 1995. p. 159.

ZEPPA, G. & DOLCI, P. Preliminary study on the control of superficial moulds of cheeses with propolis. **Scienza e Tecnica Lattiero Casearia**, Italy, v. 4, n. 53, p. 303-312, 2002.

4. Discussão

A maturação é a etapa mais sensível durante o processamento de salames. Após o embutimento, os produtos são levados a câmaras de maturação onde permanecem por várias semanas (Coelho, 1999). É durante essa etapa que ocorrem alterações químicas dos componentes da mistura, sendo que as substâncias formadas podem ser utilizadas pelos microrganismos e, dessa forma, atuam na fermentação do embutido. As transformações ocorridas durante a maturação são a formação da cor, a aromatização, a aparência das partículas e o aumento da consistência (Galli, 1993).

Nesse trabalho, foram avaliados os parâmetros físico-químicos, a presença de bolores e leveduras e as características sensoriais de salames tipo Italiano tratados com soluções hidroalcoólicas de própolis em quatro concentrações diferentes, bem como um lote controle. Foram avaliadas, ainda, as contagens de *Estafilococos coagulase positiva*, coliformes totais e coliformes fecais.

As normas de identidade e qualidade do salame tipo Italiano definem os seguintes valores para o produto: atividade de água máxima de 0,90; umidade máxima de 35%; gordura máxima de 32%; proteína mínima de 25% e carboidratos totais 1,5% (Brasil, 2000).

O procedimento de eliminação de água pela superfície do salame, por meio da exposição deste ao ar, sofre regulação de leis físicas de transferência de massa. A umidade flui continuamente desde o interior do embutido até a superfície, onde é eliminada por evaporação. Para que a umidade seja transferida desde o centro até a superfície, todos os elementos do sistema devem estar balanceados de modo que se favoreça a difusão de água (Castro, 1997). Uma perfeita cobertura de fungos sobre a superfície de salames auxilia numa perda de umidade mais homogênea, de forma lenta e progressiva, atuando na diminuição da formação de crosta na superfície dos embutidos.

Os resultados relativos a umidade (Artigo 1, Tabela 1), demonstram que não houve diferença significativa entre os tratamentos com própolis e o lote controle. A formação de mofos na superfície dos salames também não influenciou esse aspecto, pois os lotes de salames controle apresentaram uma formação de mofos bem mais intensa do que os lotes tratados com própolis (Artigo 2), o que poderia ter dificultado um pouco mais a eliminação de água nesses produtos. Após o processo de maturação, os valores de umidade encontrados nesse estudo ficaram entre 28,30 e 32,31% (Artigo 1, Tabela 1). Cavenaghi & Oliveira (1999) analisaram salames tipo Italiano fabricados no Brasil e encontraram valores médios de 33,77% para umidade. Segundo Price (1994), para embutidos secos, como salames, deve-se ter valores de umidade variando entre 35 – 40%.

A atividade de água tem sido considerada parâmetro importante no controle de qualidade de alimentos. Ela quantifica o grau de ligação da água contida no produto e, conseqüentemente sua disponibilidade para agir como solvente e participar das transformações químicas, bioquímicas e microbiológicas (Lenovich, 1987). Os resultados obtidos no final do período de maturação (Artigo 1, Figura 1), quando o processo de fabricação dos salames foi dado como concluído, apresentam valores de atividade de água que variaram entre 0,83 e 0,85, sem diferença significativa entre os tratamentos. De acordo com Wirth *et al.* (1981), nos embutidos de maturação rápida os valores de atividade de água devem oscilar entre 0,90 e 0,95, enquanto que nos de maturação lenta, como os salames, deve-se ter valores compreendidos entre 0,85 e 0,92. Segundo Terra (1997), a atividade de água indicada pelas boas práticas de fermentação de salames deve ser de, no máximo, 0,86 para comercialização nos EUA e Japão, provavelmente pelo fato de nessa atividade de água a produção de enterotoxina por *S. aureus*, microrganismo mais resistente à atividade de água, não é verificada em carnes suína e bovina (JAY, 1986).

Cavenaghi & Oliveira (1999), analisaram salame tipo Italiano fabricado no Brasil e encontraram valores de Aa que variaram entre 0,81 e 0,86; enquanto que Metaxopoulos *et al.* (1995), trabalhando com o mesmo produto, encontraram uma Aa final de aproximadamente 0,89. Assim como os valores de umidade, os resultados da Aa obtidos nesse trabalho ficaram ligeiramente abaixo dos valores recomendados para salame tipo Italiano. Segundo Jay (1994), a umidade de um produto é diretamente proporcional à quantidade de água livre.

O valor de pH obtido nos produtos cárneos é de fundamental importância para inibir o crescimento de microrganismos patogênicos e causadores de alterações (Jay, 1994; Adams, 1997), além da obtenção de adequada consistência, cor e aroma (Terra, 1993).

A queda do pH deve ocorrer até o sétimo dia de forma gradual para valores em torno de 5,0, devido a liberação de ácido lático, formado a partir da fermentação das hexoses, pelas bactérias ácido lácticas (Buckenhüskes, 1993). Observando-se os valores de pH obtidos no decorrer do período de maturação (Artigo 1, Figura 2), pode-se verificar que a redução do pH na primeira semana de maturação foi bem menos acentuada do que sugere a literatura, apresentando valores em torno de 5,6.

A partir do sétimo dia, os valores de pH sofrem um aumento, pois ocorre reações de descarboxilação e desaminação de aminoácidos, que liberam amônia no meio, alcalinizando-o. Porém, os valores de pH podem reduzir-se novamente pela lipólise, que libera ácidos graxos livres no meio, ficando ao final entre 5,2 e 5,4 (Ordóñez *et al.*, 1999). Nesse trabalho, no final da segunda semana de maturação, os resultados de pH diminuíram para valores entre 5,4 e 5,5 e, no final do processo de fabricação, os salames tratados com própolis apresentaram um ligeiro aumento no pH, o que não ocorreu com o lote de salames controle que tiveram um crescimento fúngico mais acentuado no decorrer de todo o processo de maturação. Isso se assemelha aos resultados encontrados por Fernandez *et al.* (1997) e Fonseca (1999), que atribuíram esse aumento do pH ao aparecimento de compostos básicos oriundos da degradação de proteínas, de substâncias tamponantes e também da diminuição de eletrólitos. Resultados diferentes foram obtidos por RÖDEL *et al.* (1994) que observaram metabolismo fúngico demasiadamente acentuado, resultando em um pH final muito elevado.

Tecnologicamente, a proteína é essencial para os produtos cárneos, dentre os quais está o salame. As proteínas miofibrilares, extraídas pelo cloreto de sódio, conferem liga ao produto. Com a acidificação, as proteínas passam do estado sol para gel, liberam água e, assim, influenciam na textura do produto. O aroma é, em parte, formado a partir de reações bioquímicas que ocorrem com os aminoácidos que as compõem, tais como a leucina e isoleucina (Ordóñez *et al.*, 1999; Demeyer, 2000). Os resultados obtidos para proteína nesse trabalho, no final do período de maturação, variaram entre 30,83 e 32,50% (Artigo 1, Tabela 1), sem diferença significativa entre os tratamentos e o controle. Os dados encontrados estão de

acordo com a legislação vigente (Brasil, 2000). A elevada porcentagem de proteína do salame tipo Italiano confere textura e fatiabilidade ao produto (Terra, 1998), além de ser uma excelente fonte protéica pelo elevado valor biológico.

Os níveis de nitrogênio solúvel em água (NSA) nos salames controle e tratados com própolis aumentaram de forma mais acentuada na primeira semana de maturação e foram aumentando de forma gradual até o final do processo de fabricação. Entretanto, decorrido o tempo de maturação, os valores entre os salames tratados e controles não apresentaram diferença significativa (Artigo 1, Tabela 1). Os resultados obtidos representam aumento final nos níveis de NSA, o que pode ser justificado pela proteólise que ocorre no decorrer do processo de maturação, onde as proteases hidrolisam as proteínas a polipeptídios e as peptidases decompõem estes polipeptídios a pequenos péptides e aminoácidos livres que são solúveis em água. Estes dados são semelhantes aos obtidos por DEMEYER *et al.* (1974).

A gordura contribui para o flavor, textura e aparência dos alimentos, aumentando em muito o sentimento de satisfação dos consumidores por ocasião das refeições (Akoh, 1998). A gordura modifica a percepção dos componentes do flavor por influenciar o balanço, intensidade e liberação do mesmo (Lucca & Tepper, 1994). Nos resultados obtidos na determinação do teor de gordura dos salames italianos, as análises realizadas nos tempos de 7 e 14 dias apresentaram diferença significativa entre os tratamentos, o que pode ter ocorrido em função da falta de homogeneidade nas amostras coletadas para a quantificação. Os resultados finais variaram entre 25,27 e 27,51% não apresentando diferença significativa e ficando dentro dos valores estabelecidos pela legislação (Brasil, 2000). Coelho (1999) analisando salame tipo italiano acrescido de diferentes percentuais de couro cozido encontrou valores de gordura próximos a 25%. Assim como Cavenaghi & Oliveira (1999) que analisaram salames tipo italiano fabricados no Brasil e encontraram um teor médio de gordura de 24,85% nos mesmos.

O cloreto de sódio é incluído na formulação de salames em virtude de seus efeitos nas propriedades sensoriais, funcionais e preservativas (Bacus, 1984). As médias dos valores de cloretos encontrados nesse trabalho (Artigo 1, Tabela 1) na primeira análise, que corresponde à massa inicial do salame, estão dentro dos

valores sugeridos pela literatura. No final do processo de maturação, os valores de cloretos ficaram entre 6,25 e 6,90% não apresentando diferença significativa, abaixo dos valores que Metaxopoulos *et al.* (1995) encontraram trabalhando com salame tipo Italiano, que foi um valor médio de 10% de cloretos nos produtos. O aumento dos valores de cloretos, assim como para as cinzas, ocorre em função da diminuição dos valores de outros parâmetros, como a umidade e a atividade de água.

Os valores de resíduo mineral fixo aumentaram de forma gradual durante o período de maturação (Artigo 1, Tabela 1), atingindo valores finais que variaram de 8,51 a 8,84 não apresentando diferença significativa entre os salames tratados com própolis e o grupo controle. A legislação (Brasil, 2000) não estabelece valores mínimos ou máximos para a quantidade de cinzas ou resíduo mineral fixo em salames tipo Italiano.

A cobertura com mofos no salame tipo Italiano deve ser uniforme, esbranquiçada ou acinzentada, e isenta de manchas esverdeadas, marrons ou negras (LEISTNER & AYRES, 1967). As contagens de bolores e leveduras realizadas desde o início até o final do período de maturação dos salames tratados com própolis e dos lotes controle não apresentaram diferença estatística significativa (Artigo 2, Figura 1). Porém, deve-se considerar o número de ciclos logarítmicos em questão e a diferença da coloração das colônias formadas e analisar essa diferença sob o ponto de vista microbiológico para poder, assim, verificar a eficiência do tratamento com própolis sobre o desenvolvimento dos mofos. Os tratamentos com soluções hidroalcoólicas de própolis nas concentrações de 2 e 4% mostraram-se igualmente efetivos no controle do crescimento fúngico sobre a superfície dos salames, já os tratamentos com concentrações mais baixas da solução, apesar de apresentarem uma contagem maior de colônias de fungos, também se apresentaram eficientes quando comparados ao controle, que teve crescimento de um maior número de colônias no decorrer de todo processo de maturação. A observação visual revelou que o desenvolvimento fúngico nos salames controles não só foi mais pronunciado do que nos que sofreram o tratamento, como também apresentou crescimento de mofos de coloração escura e esverdeada. Entre os fungos filamentosos que formam conídeos esverdeados estão vários toxigênicos e o *Penicillium chysogenum*. Micotoxinas como roquefortina C e PR toxina, produzidas por *P. chysogenum* já foram detectadas em queijos (SAMSON & REENEN-

HOEKSTRA, 1988). Este fungo também é capaz de produzir crisogina, ácido emódico e penicilina (ANDERSEN, 1995).

A enumeração de *Estafilococos* coagulase positiva, coliformes totais e coliformes fecais também foram realizadas apenas no final do processo de maturação. Essas análises foram realizadas para verificar as condições de higiene do produto. Não foi detectada a presença de coliformes fecais nas amostras. As contagens de coliformes totais e *estafilococos* coagulase positiva encontraram-se dentro dos limites permitidos pela legislação vigente para o salame tipo Italiano (Brasil, 2000).

O processo de fabricação do salame foi concluído aos 19 dias de maturação, quando a atividade de água atingiu o valor de 0,86. Nesse momento, foi realizada a análise sensorial através do teste de aceitabilidade (escala hedônica estruturada, onde 9 é a nota máxima “gostei muitíssimo” e 1 é a nota mínima “desgostei muitíssimo”). Esta análise mostrou que os salames tratados e não tratados com extrato hidroalcoólico de própolis, bem como as diferentes concentrações dos tratamentos, resultaram em produto de qualidade organoléptica semelhante. A textura foi o único parâmetro que apresentou diferença estatística significativa ($p > 0,05$) mostrando maior aceitabilidade aos tratamentos de 2 e 4%.

5. CONCLUSÕES

Os resultados do presente trabalho indicam que:

1. O uso de solução hidroalcoólica de própolis, preparada a partir de extrato alcoólico líquido de própolis, nas concentrações de 0,5; 1; 2 e 4% foi eficaz no controle do crescimento de fungos
2. A eficiência das soluções hidroalcoólicas de própolis no controle da formação dos mofo aumentou de acordo com o aumento das concentrações das soluções.
3. A utilização das soluções hidroalcoólicas de própolis nas diferentes concentrações não interferiu nas características físico-químicas dos salames tratados quando comparados ao controle.
4. O uso de soluções hidroalcoólicas de própolis nas concentrações de 0,5; 1; 2 e 4% não modificou as características sensoriais das amostras analisadas, o que indica que o seu uso em salames não interfere nas suas propriedades organolépticas.

6. Sugestões

1. Verificar a influência da própolis nas bactérias ácido-láticas, utilizando “starters” na fabricação do salame tipo Italiano.
2. Determinar as espécies de mofo que se formam na superfície do salame;
3. Quantificar o nitrogênio solúvel a partir de outras técnicas, com outros solventes.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, M. R. & MOSS, M. O. **Microbiologia de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 464p, 1997.

ANDERSEN, S. J. Compositional changes in surface mycoflora during ripening of naturally fermented sausages. **Journal of Food Protection**, v. 58, p. 426-429, 1995.

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. Utilization of microorganisms in meat processing: a handbook for meat operators. New York: John Wiley & Sons, 1984. 170 p.

BAILEY, A. J. & LIGHT, N. D. **Connective tissue in meat products**. London: Elsevier, 1989. 355p.

BANKOVA, V.; Christov, R.; Kujumgiev, A.; Marcucci, M. C. and Popov, S. Chemical composition and antibacterial activity of Brazilian propolis. **Zeitschrift für Naturforschung Section C. Biosciences** v. 50, p. 167–172, 1995.

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. Instrução normativa n.22, de 31 de julho de 2000. Regulamentos técnicos de identidade e qualidade de salame tipo Italiano. Publicada no Diário oficial da União de 03/08/2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria Nº 1.004, de 11 de dezembro de 1998. Aprova o Regulamento Técnico: “Atribuição de Função de Aditivos, Aditivos e seus Limites Máximos de uso para a Categoria 8 – Carne e Produtos Cárneos”, constante do Anexo desta Portaria. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 14 dez., 1998. Seção I, p. 28.

BREMMEGAARD, A. Truslen fra multiresistente mikroorganismer. **Ugeskrift for Læger** v. 160, p. 6329–6344, 1998.

BRENNAN, J. G. Texture Perception and Measurements. In: J. R. Piggott, **Sensory analysis of foods**. Essex: Elsevier Applied Science Publisher Ltd, 1984. p. 59-91.

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.

BUCKENHÜSKES, H. J. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as cultures for various food commodities. **FEMS Microbiology Reviews**. v. 12, p. 253-272, 1993.

BUTIKÖFER, U.; RUEGG, M. ; ARDO, Y. Determination of nitrogen fractions in cheese: evaluation of collaborative study. **Lebesm-Wiss Technology**, n.26, p. 271-75, 1993.

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

CASTRO, L. C. **Efeito da Inoculação de *Penicillium nalgiovense* na Maturação de Salames**. Porto Alegre: UFRGS, 1997. 72 f. Tese (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1997.

CAVENAGHI, A.D. & OLIVEIRA, M. N. Influência de algumas características físico-químicas e sensoriais na qualidade de salame tipo Italiano fabricado no Brasil. **Revista Nacional da Carne**, n.263, p. 44-48, janeiro de 1999.

CHEMID. A chemical database sponsored by the **National Library of Medicine**. Bethesda, MD, 1996.

CIRASINO, L.; PISATI, A.; FASANI, F. Contact dermatitis from propolis. **Contact Dermatitis** n.16, p. 110–111, 1987.

COELHO, H. S. O couro suíno cozido na elaboração de salame tipo Italiano. Santa Maria: UFSM, 1999. 89 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, 1999.

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.

CORETTI, K. **Embutidos: Elaboración y defectos**. Zaragoza: Acribia, 1971. p. 136,172

CREULY, C.; Larroche, C. and Gros, J.B. Bioconversion of fatty acids into methyl ketones by spores of *Penicillium roquefortii* in a water-organic solvent, two-phase system. **Enzyme and Microbial Technology** v.14, p. 669–678, 1992.

DEMEYER, D.; CLAEYS, E.; ÖTLES, S.; CARON, L. & VERPLAETSE, A. Effect of meta species on proteolysis during dry sausage fermentation. **Congress proceedings of 38th ICoMST**, Paris: Clermont-Ferrand, p. 775-778, 1992.

DEMEYER, D.; DIRIECK, N. & VANDEKERCKHOVE, P. Changes in nonprotein nitrogen compounds during dry sausage ripening. **Journal of Food Science**, v. 39, p. 301-304, 1974.

DEMEYER, D.; HOOZEE, J. & MESDOM, H. Specificity of lipolysis during dry sausage ripening. **Journal Food Science**. 39:293-296, 1974.

DEMEYER, D.; RAEMAEKERS, M.; RIZZO, A.; *et alii*. Control of bioflavour and safety in fermented sausage: first results of a European project. **Food Research International**. V.33, p. 171-180, 2000.

DEMEYER, D. I.; VERPLAETSE, A.; GISTELINCK, M. Fermentation of meat: na integrated process. **Belgian Journal of Food Chemistry and Biotechnology**, v. 41, n. 5, p. 131-139, 1986.

DIEB, EL. SM. *et al*. The antibacterial and antifungal effect of honeybee propolis and its use on as cheese. **Bulletin of Faculty of Agriculture**, University of Cairo, v. 1, n. 41, p. 95-112, 1997.

DOBROWOLSKI, J. W.; VOHORA, S. B.; SHARMA, K. *et alii*. Antibacterial, antifungal, antiamebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. **Journal of Ethnopharmacology** n. 35, p. 77-82, 1991.

DRAGONI, I. & CANTONI, C. Le muffe nei prodotti carnei. **Scienze**, v. 9, p. 74-77, 1984.

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

ECKARDT, C. Vorkommen toxinogener Penicillien bei Flescherzeugnissen. **Fleischwirtschaft**, v. 59, p. 1892-1896, 1979.

FERNANDEZ, C. G.; SANTOS, E. M.; JAIME, I.; ROVIRA, J. Use of starter cultures in dry fermented sausage (chorizo) and their influence on the sensory properties. **Food science and Technology International**, v. 3, p. 31-42, 1997.

FERNÁNDEZ, M.; ORDÓÑEZ, J.; BRUNA, J. M.; HERRANZ, B. *et alii*. Accelerated ripening of dry fermented sausages. **Food Science & Technology**. 11:201-209, 2001.

FONSECA, S. H. **Sobrevivência de *Listeria innocua* em salame italiano**. 1999. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, 1999.

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

FRENKEL, K.; WEI, H.; BHIMANI, R. *et alii*. Inhibition of tumor promoter-mediated processes in mouse skin and bovine lens by caffeic acid phenethyl ester. **Cancer Research** v. 53, p. 1255–1261, 1993.

GALLI, F. Os embutidos. Como fabricá-los. **Revista Nacional da Carne**, p. 14-28, abril de 1993.

GEISEN, R.; LÜCKE, F. K. ; KRÖKEL, L. Starter and protective cultures for meat and meat product. **Fleischwirtsch.** v. 72, p. 894-898, 1979.

GHISALBERTI, E. L. Própolis: a review. **Bee World**, n.60, p. 59-84, 1979.

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

GREENAWAY, W.; MAY, J.; SCAYSBROOK, T. *et alii*. Identification by gas chromatography-mass spectrometry of 150 compounds in propolis. **Zeitschrift für Naturforschung** n.46, p. 111–121, 1991.

GREENAWAY, W.; SCAYSBROOK, T.; WHATLEY, F. R. The analysis of bud exudate of *Populus x euramericana*, and of propolis, by gas chromatography-mass spectrometry. **Proceedings of the Royal Society, London B** 232, p. 249–272, 1987.

_____. The composition and plant origins of propolis: a report of work at Oxford. **Bee World** v. 71, p. 107–118, 1990.

GROSCH, W. Lipid degradation products and flavor. In: MORTON, I. D. & MACLEOD, A. J. **Food Flavors**, parte A. *Introduction*, Amsterdam: Elsevier, 1982. p. 325-398.

HAMMES, W.P.; BANTLEON, A.; MIN, S. Lactic acid bacteria in meat fermentation. **FEMS Microbiology Review**, v. 87, p. 165-174, 1990.

HAN, S. K.; PARK, H. K. A study on the preservation of meat products by natural propolis: effect of EEP on protein change of meat products. **Korean Journal of Animal Science**, n.37, p. 551–557, 1995.

HAVSTEEN, B. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. **Biochemical Pharmacology** v. 32, p. 1141–1148, 1983.

IGRAN, M. & SIMONSEN, B. Carne e Produtos Cárneos. In: **International Comisión on Microbiological Specifications for Foods, Ecología Microbiana de los Alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1985.

IKENO, K.; IKENO, T. & Miyazawa, C. Effects of propolis on dental caries in rats. **Caries Research** v. 25, p. 347–351, 1991.

JAY, J. **Microbiología Moderna de los Alimentos**. 3. ed. Zaragoza: Acribia, 1994. p. 804.

JAY, J. M. **Modern food microbiology**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1986. 641 p.

KARAHANDIAN, C.; JOSEPHSON, D.B. ; LINDSAY, R.C. Contribution of *Penicillium* sp. to the flavors of Brie and Camembert cheese. **Journal Dairy Science** v. 68, p. 1865–1877, 1985.

KINSELLA, J.E. & Hwang, D.H. Biosynthesis of flavors by *Penicillium roqueforti*. **Biotechnology and Bioengineering** v.18, p. 927–938, 1976.

KOLTAY, M. **Isolation and identification of constituents of propolis**. MSc Thesis. Concordia University, Montreal, Quebec, Canadá, 1981.

LANARA (Laboratório Nacional de Referência Animal) – **Coordenadoria de Laboratórios, Brasília – DF** – setembro, 1981.

LANARA (Laboratório Nacional de Referência Animal) – Métodos de Análise Microbiológica para Alimentos – **Coordenadoria de Laboratórios, Brasília – DF**, capítulo 11, 1999.

LAWRIE, R. A. **Ciência de la Carne**, Zaragoza: Acribia, 1967. 380 p.

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

LEISTNER, L. & AYRES, J.C. Schimmelpilze und Fleischwaren. **Fleischwirtschaft**, v. 47, p. 1320-1325, 1967.

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.

LEITÃO, M. S. S. Controle do desenvolvimento microbiano no processamento industrial de carne e produtos cárneos. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**. Campinas: 21(1), p. 21-39, 1984.

LENOVICH, L. M. In: **Water activity: theory and applications to food**. ROCKLAND, L. B. & BEUCHAT, L. R. (Eds.). Chicago: Institute of Food Technologists, 1987. 404 p.

LISOWSKI, F. Demystifying health foods. **On Continuing Practice** v. 11, p. 11–14, 1984.

LÜCKE, F.K., Fermented sausages. In: B.J.B. Wood, Editor, **Microbiology of fermented foods**, London: Blackie Academic & Professional, 1997. p. 441–483.

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

MARCUCCI, M. C. Propolis: Chemical composition, biological properties and therapeutic activity. **Apidologie**, n.26, pp. 83-99, 1995.

MARKHAM, K.E. *et al.* HPLC and GC-MS indentification of the major organic constituents in New Zealand propolis. **Phytochemistry**, n. 42, p. 205-511, 1996.

MARTINS, J. F. P. & LUCHESE, R. H. **Aspectos biotecnológicos do processamento de produtos cárneos fermentados**, In: CURSO SOBRE BIOTECNOLOGIA DE PROCESSAMENTO DE SALAMES E OUTROS EMBUTIDOS CURADOS, Universidade Federal de Santa Maria, p. 52, 1985.

MASTROGIACOMO, V. F. Produtos Maturados. In: **III Simpósio de tecnologia da carne**. Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas, 1983.

MELLO, V. E. B. **Proteínas não cárneas na formulação do salame tipo italiano**. Santa Maria: UFSM, 2003. 95 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos alimentos) Universidade Federal de Santa Maria, 2003.

MENDES, A.C. Desenvolvimento do “flavor” em carnes: aspectos bioquímicos e tecnológicos. **Revista Nacional da Carne**, n. 251, p. 18-24, janeiro de 1998.

METAXOPOULOS, J.; GENIGEORGIS, C.; FANELLI, M. J. *et alii*. Production of italian dry salami. I – Initiation of staphylococcal growth in salami under commercial manufacturing conditions. **Journal of Food Protection**, v.44, n.5, p. 347 – 352. 1995.

MONTEIRO, C.B.L. **Técnicas de avaliação sensorial**. 2. ed. Curitiba: UFPR/CEPPA, 1984. 1001p.

MONTI, M.; BERTI, E.; CARMINATI, G. *et alii*. Occupational and cosmetic dermatitis from propolis. **Contact Dermatitis** n. 9, p. 163, 1983.

MORAES, M. A. C. **Métodos para avaliação sensorial dos alimentos**. 6.ed. Campinas: UNICAMP, 1988.

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

ORDÓÑEZ, J. A.; HIERRO, E. M.; BRUNA, J. M. *et alii*. Changes in the components of Dry-fermented Sausages during ripening. **Food Science and Nutrition**. v. 39, p. 329-367, 1999.

PALMIA, F. Salames e embutidos: os fermentados. **Revista Nacional da Carne**. n.259, p. 71-73. 1998.

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

PARDI, M. C. **Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne**. Goiânia: Ed. Universidade Federal de Goiás, 1993. v. 1 e 2

PARK, Y. K.; ALENCAR, S. M.; MOURA, F. F. *et alii*. Biological activities of propolis. **Revista OESP – Alimentação**, n.27, 1999.

PEPELJNJAK, S.; JALSENJAK, I. ; MAYSINGER, D. Flavonoid content in propolis extracts and growth inhibition of *Bacillus subtilis*. **Pharmazie** v. 40, p. 122–123, 1985.

_____. Inhibition of growth and biosynthesis of ochratoxin A in *Aspergillus sulphureus* NRRL 4077 by propolis extract. **Pharmazie**, n. 37, pp. 439-440, 1982.

PRANDL, O. Observaciones sobre problemas en el curado. **Fleischwirtschaft**, Frankfurt (Main), n. 1, p. 22-26, 1981.

PRICE, J. F. & SCHWEIGERT, B. S. **Ciencia de la carne y de los productos carnicos**. 2 ed. Zaragoza: Acribia, 1994. 581p.

PRÖLER, T. Cultures for fast and safe production of fermented, dry sausages. **Die Fleischerei**. n.10, p. x-xvi, 1994.

RAO, C. V.; DESAI, D.; SIMI, B.*et alii*. Inhibitory effect of caffeic acid esters on azoxymethane-induced biochemical changes and aberrant crypt foci formation in rat colon. **Cancer Research** v. 53, p. 4182–4188, 1993.

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

ROJAS, H. N. M.; CANDELARIO, M. ; OLIVARES, E. Antimicrobial activity of propolis against representatives of the genus *Mycobacterium*. **Revista Biología (Habana)** v. 7, p. 69–75, 1993.

ROITMANN, J.; TRAVASSOS, L. R.; AZEREDO, J. L. **Tratado de Microbiologia**. São Paulo: Manole, 1987. v. 1.

ROJAS, N. M.; CCANDELARIO, M.; OLIVARES, E. Antimicrobial activity of propolis against representatives of the genus *Mycobacterium*. **Revista Biología**, n. 7, p. 69–75, 1993.

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

SAMSON, R.A. & REENEN-HOEKSTRA, E.S. Van. **Introduction to Foodborne Fungi**. 3. ed. Baarn: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 1988.

SIQUEIRA, S. **Manual de microbiologia de alimentos**. Brasília: Embrapa, 1995. p. 159.

STAHNKE, L. H. Dried sausages fermented with *Staphylococcus xylosus* at different temperatures and with different ingredient levels – Parte II. Volatile components. **Meat Science**. v. 41, n.2, p. 193-209, 1995.

STAHNKE, L. H.; HOLCK, A.; JENSEN, A. *et alii.* Maturity acceleration by *Staphylococcus carnosus* in fermented sausages – relationship between maturity and flavor compounds. **Journal of Food Science**, v. 23, n.4, p. 164-132, 2002.

TERRA, N. N. & BRUM, M. A. R. **Carne e seus derivados: técnicas de controle de qualidade**. São Paulo: Nobel, 1988. 121p.

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. N. Fermentação como fator de segurança e qualidade para o consumidor. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, n. 239, p. 26-32, 1997.

_____. **Apontamentos de Tecnologia de Carnes**. São Leopoldo: Ed. UNISINOS, 1998.

_____. Fermentação cárnea. **Revista Nacional da Carne**, n. 233, p. 10, julho de 1996.

USDA. United States Department of Agriculture. United States Standards for Grades of Extracted Honey. Agricultural Marketing Service. Fruit and Vegetable Division. Processed Products Branch. Washington, DC, 1985.

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.

ZEPPA, G. & DOLCI, P. Preliminary study on control of superficial moulds of cheeses with propolis. **Scienza e Tecnica Lattiero Casearia**, v. 4, n. 53, p. 303-312, 2002.

WIRTH, F., LEISTNER, L. ; RÖDEL, W. **Valores normativos de la tecnología cárnica**. Zaragoza: Acribia, 1981. 127 p.

YAMADA, E. A. A produção de salames. **Revista Nacional da Carne**, n. 220, p. 72-75, junho de 1995.

8. ANEXO

8.1. Anexo 1 – Ficha de Avaliação de Análise Sensorial – Teste de Aceitabilidade (Escala Hedônica).

Nome: Data:
Produto: Salame tipo italiano

Avalie cada uma das amostras codificadas e use a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou de cada amostra.

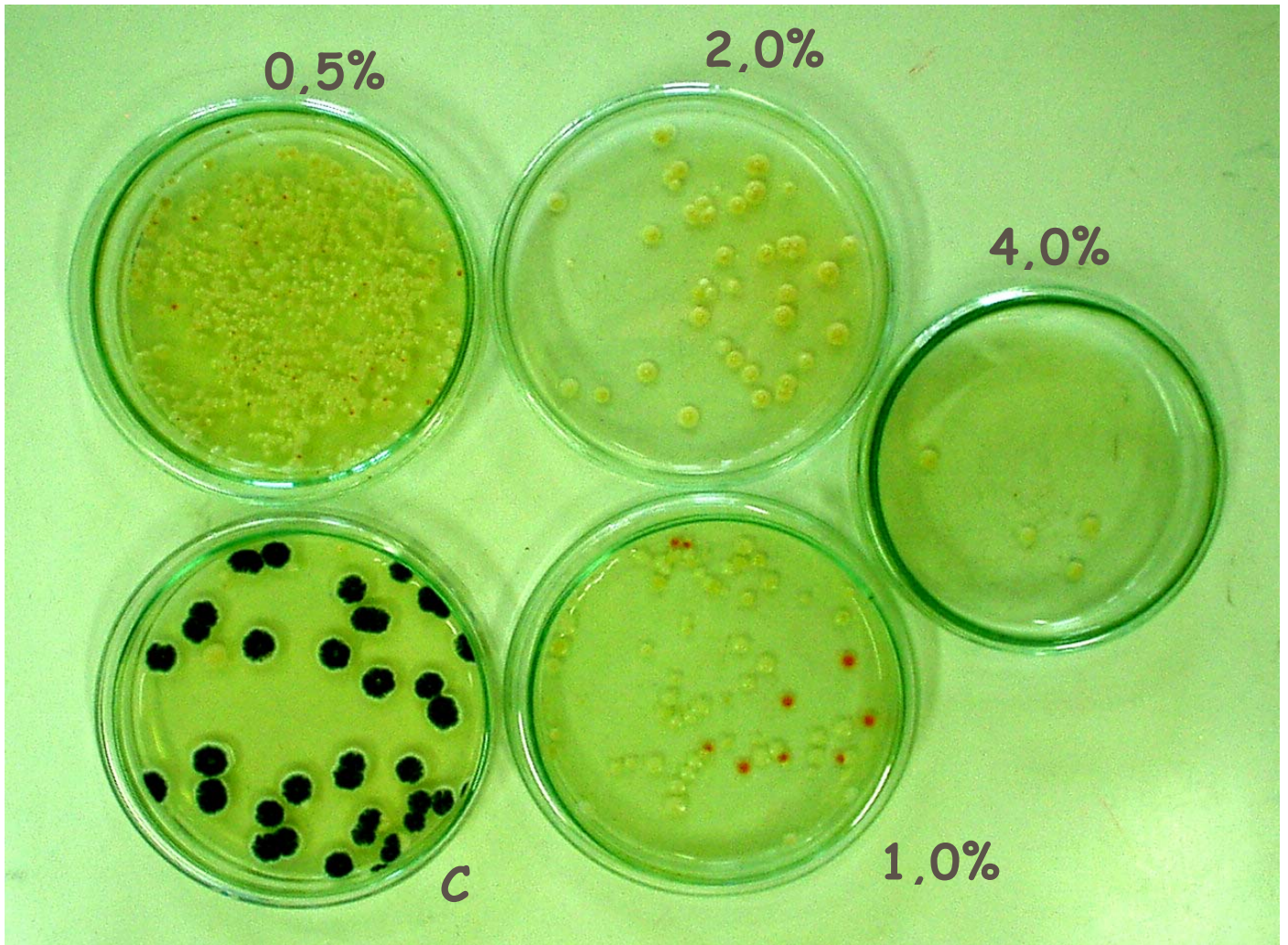
- 9- gostei muitíssimo
- 8- gostei muito
- 7- gostei moderadamente
- 6- gostei ligeiramente
- 5- nem gostei/nem desgostei
- 4- desgostei ligeiramente
- 3- desgostei moderadamente
- 2- desgostei muito
- 1- desgostei muitíssimo

Características/Amostras	853	461	378	262	627
Cor					
Aroma					
Aparência					
Fatiabilidade					
Textura					
Sabor					

Comentários:

.....
.....

8.2. Anexo 2 – Fotografia do crescimento dos bolores e leveduras em placa de Petri no 19º dia das amostras controle e tratadas com 0,5, 1, 2, e 4% de extrato hidroalcoólico de própolis.



8.3. Anexo 3 - Fotografia do crescimento dos bolores e leveduras nas peças de salame no 19º dia das amostras controle e tratadas com 0,5, 1, 2, e 4% de extrato hidroalcoólico de própolis.

