



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

LETÍCIA FONTANA

**Controle do desenvolvimento de fungos filamentosos
indesejáveis em salame: Uma revisão**

PORTO ALEGRE

2022

LETÍCIA FONTANA

**Controle do desenvolvimento de fungos filamentosos
indesejáveis em salame: Uma revisão**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
como requisito parcial para obtenção do título
de Engenheira de Alimentos do Instituto de
Ciência e Tecnologia de Alimentos da
Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Juliane Elisa Welke

PORTO ALEGRE

2022

FOLHA DE APROVAÇÃO

Letícia Fontana

CONTROLE DO DESENVOLVIMENTO DE FUNGOS FILAMENTOSOS INDESEJÁVEIS EM SALAME: UMA REVISÃO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para obtenção do título de Engenheira de Alimentos.

Aprovada em: 18/10/2022

BANCA EXAMINADORA

Juliane Elisa Welke (Orientadora)

Dr^a. em Química

Patrícia Benelli

Dr^a em Engenharia de Alimentos

Patrícia da Silva Malheiros

Dr^a em Microbiologia Agrícola e do Ambiente

AGRADECIMENTOS

Durante esses anos de muito estudo, dedicação e esforço, pessoas foram fundamentais para que este sonho se concretizasse e a elas expresso aqui minha gratidão. Primeiramente, agradeço aos principais e essenciais pilares do meu desenvolvimento e educação, meus pais, Juarez Fontana e Marli Ana Fontana. Foram eles que me incentivaram, apoiaram, seguraram minha mão, sonharam junto comigo e estiveram presentes em todos momentos desta trajetória. Nunca mediram esforços para minha felicidade, moveram montanhas para eu conseguir chegar onde estou e ser quem sou, por isso digo que esta conquista não é somente minha, é nossa!

À minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Juliane Elisa Welke, por todo incentivo e disponibilidade diante da intensa rotina acadêmica, por ter acreditado e depositado toda confiança em mim. Saliento o apoio incondicional prestado, a forma interessada, extraordinária e pertinente como acompanhou a realização deste trabalho. Suas valiosas indicações, correções e críticas construtivas fizeram toda a diferença.

À Universidade tão imponente, ao seu corpo docente, e também, ao Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, ICTA, por terem me recebido de braços abertos em seu ambiente propício à evolução e crescimento tanto pessoal quanto profissional. Enfatizo a total demonstração de comprometimento com a qualidade e excelência do ensino.

Aos colegas de curso, que tornaram meus amigos e compartilharam as mesmas emoções e expectativas ao longo da graduação.

E a todos meus amigos, que de alguma forma vivenciaram e vibraram junto comigo cada etapa vivida.

RESUMO

Em salames, durante a maturação pode ocorrer o desenvolvimento de fungos filamentosos indesejáveis, também conhecidos como bolores, os quais podem alterar as características sensoriais como cor, aroma e sabor, além de representar um problema para a saúde do consumidor devido às toxinas que podem produzir. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo apresentar alternativas, com base em dados da literatura, para o controle do desenvolvimento destes microrganismos na fabricação de salame. Foram mencionados métodos efetivos de controle do desenvolvimento de fungos filamentosos, como o uso de natamicina, enzimas, ionização do ar das câmaras de maturação e agentes de biocontrole. A natamicina, aplicada por imersão ou aspersão, é capaz de reduzir o risco de produção de micotoxinas, não afetando as características organolépticas do produto. Enzimas, como as β -1,3-glucanases e quitinases, quando inoculadas em concentrações de 50% apresentam resultados satisfatórios na inibição de fungos filamentosos dos gêneros *Penicillium* e *Aspergillus*. A ionização do ar em câmaras de maturação tem demonstrado efetiva redução nas contagens de fungos filamentosos na superfície dos produtos, sem alterações de suas características sensoriais. Bactérias lácticas, leveduras e fungos não patogênicos são agentes de controle biológico capazes de controlar o desenvolvimento de fungos toxigênicos e evitar o acúmulo de micotoxinas ao longo do processamento, porém alteram as características sensoriais do produto. Dentre as diferentes estratégias de controle fúngico, o uso da ionização do ar requer custos de implementação do sistema, enquanto para as demais não se tem qualquer custo adicional de adaptação nas salas de maturação.

Palavras-chave: Biocontrole, enzimas, fungos filamentosos, ionização, maturação, natamicina e salame.

ABSTRACT

In salamis, during a period of maturation, may occur the development of undesirable filamentous fungi, also named as molds, attacking the wrapping and being able to change the sensory characteristics such as color, aroma and flavor, in addition to representing a problem for the health of the consumer due to the toxins they can produce. In this context, the present work aimed to present alternatives, based on literature data, to control the development of these microorganisms in the manufacture of salami. Effective methods of controlling the development of molds were mentioned, such as the use of natamycin, enzymes, ionization of the air in the maturation chambers and biocontrol agents. Liquid or powdered natamycin, applied by immersion or spraying, reduces the risk of mycotoxin production, without affecting the organoleptic characteristics of the product. The inoculation of the enzymes, such as β -1,3-glucanases and chitinases, in concentrations of 50%, present satisfactory results in the inhibition of molds of the genera *Penicillium* and *Aspergillus*. Air ionization in maturation chambers results in low counts of filamentous fungi on the surface of the products, without changes in their sensory characteristics. Lactic acid bacteria, yeasts and non-pathogenic fungi are biological control agents capable of growing and competing against toxigenic fungi, making them effective in controlling the development of these microorganisms and the accumulation of mycotoxins during processing. Among the different fungal control strategies, the use of ionization requires system implementation costs, while the others do not have any additional cost of adaptation in the maturation rooms.

Keywords: Biocontrol, enzymes, filamentous fungi, ionization, maturation, natamycin and salami.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma genérico do processamento do salame	15
Figura 2 - Funcionamento da ionização do ar em câmaras de maturação	33
Figura 3 - Funcionamento do filtro eletrostático contido nos tubos de ionização	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Requisitos estabelecidos para salames	21
Tabela 2 - Padrões microbiológicos para produtos cárneos maturados	22
Tabela 3 - Fungos filamentosos de maior frequência, isolados de salames e do ar circulante em câmaras de maturação de fábricas da região sul do Brasil	26
Tabela 4 - Contagem de fungos filamentosos em Salame do tipo Italiano em 7, 14 e 21 dias de maturação	29
Tabela 5 - Efeito inibitório da concentração de 50% de β -1,3-glucanases e quitinase sobre o crescimento dos microrganismos com inóculo na concentração de 10^5 e 10^3 esporos/mL	31

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 OBJETIVOS	10
2.1 Objetivo Geral	10
2.2 Objetivos Específicos	10
3 METODOLOGIA	11
4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
4.1 Embutido Fermentado	12
4.2 Salame	13
4.3 Elaboração de Salame	14
4.3.1 Formulação	15
4.3.2 Preparação da Massa	17
4.3.3 Embutimento	17
4.3.4 Defumação, Cura, Fermentação e Maturação	18
4.4 Padrões de Qualidade e Microbiológicos para Salames	21
4.5 Microbiologia de Produtos Cárneos Curados e Fermentados	22
4.5.1 Microrganismos Deteriorantes e Patogênicos	23
4.5.2 Importância de Leveduras e Fungos Filamentosos	23
4.6 Desenvolvimento de Fungos Filamentosos em Salame	24
4.7 Controle do Desenvolvimento de Fungos Filamentosos	27
4.7.1 Natamicina	27
4.7.2 Enzimas	29
4.7.3 Ionização do Ar	32
4.7.4 Controle Biológico	34
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	37
6 REFERÊNCIAS	38

1 INTRODUÇÃO

O salame é um produto cárneo curado e fermentado que possui alto valor agregado e é caracterizado pelas suas propriedades organolépticas, nutricionais, químicas e microbiológicas. Possui um sabor ácido característico devido à presença de ácido láctico e baixo teor de umidade decorrente aos processos de secagem, cura e maturação.

No Brasil, muitas indústrias ainda utilizam equipamentos e câmaras de maturação que não permitem o controle de umidade, temperatura e velocidade do ar, favorecendo o aparecimento de microrganismos indesejáveis. A presença de fungos filamentosos na superfície do salame é muito comum, porém estes microrganismos podem ser prejudiciais à uniformidade da desidratação, causando efeitos negativos no desenvolvimento de cor, aroma e no sabor. Além disso, os fungos filamentosos podem produzir toxinas colocando em risco a segurança dos alimentos, representando um problema à saúde pública.

Estratégias são procuradas pelas indústrias para a prevenção e controle do desenvolvimento de fungos filamentosos indesejáveis durante o processo de maturação, a fim de aumentar o rendimento e reduzir perdas e custos de produção. Dessa forma, o presente trabalho busca identificar as novas tecnologias estudadas na literatura como alternativas para o controle do desenvolvimento de fungos filamentosos indesejáveis em salames.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Identificar, por meio de uma revisão bibliográfica, estratégias para o controle do desenvolvimento de fungos filamentosos indesejáveis em salame.

2.2 Objetivos Específicos

- Apresentar as etapas de produção e as características físico-químicas e microbiológicas de salames de acordo com legislação vigente;
- Verificar dados de ocorrência de microrganismos deteriorantes e patogênicos, incluindo fungos filamentosos indesejáveis em salames;
- Apresentar alternativas para o controle de fungos deteriorantes e patogênicos em salames.

3 METODOLOGIA

Este trabalho consiste em uma revisão bibliográfica realizada por meio da consulta a artigos científicos nas bases de dados “Web of Science”, “Pubmed” e Biblioteca SciELO durante o período de março até setembro de 2022. Combinações entre as palavras-chaves: “biocontrol, methods to reduce mycotoxins, enzymes, filamentous fungi, ionization, maturation, natamycin, salami” foram utilizadas com o intuito de filtrar os materiais de interesse. A data de publicação dos artigos não foi restringida. Os trabalhos foram elencados a partir de leitura criteriosa do resumo e do material na íntegra, e julgados conforme a pertinência ao tema proposto.

A escolha do tema teve como motivação o trabalho desenvolvido como aluna de iniciação científica na área de fungos e micotoxinas de 2020 a 2021 no Instituto de Ciência e Tecnologia em Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, e também, o fato de estagiar numa indústria que produz salame, onde foi verificado o desafio no controle de fungos na superfície desses produtos. No entanto, dados foram buscados na literatura com o intuito de encontrar métodos utilizados no controle do desenvolvimento desses microrganismos.

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 Embutido Fermentado

Na intenção de ampliar o paladar do consumidor e gerar aproveitamento de toda matéria-prima, a indústria de carne aprimora o desenvolvimento de produtos processados, como os embutidos fermentados. Estes produtos são definidos como alimentos preparados a partir de matérias-primas aquecidas ou cruas, envolvendo microrganismos em seu processo, adquirindo características sensoriais favoráveis e diferenciadas (AMERLING, 2001).

Há registros de produção de alimentos fermentados desde o período pré-histórico, no Oriente. Os processos fermentativos ocorriam de forma natural e espontânea, e obviamente, os microrganismos e suas funções no alimento eram desconhecidos. Essa técnica, a mais antiga para produzir alimentos, era passada de geração a geração (CAPLICE; FITZGERALD, 1999).

A produção de embutidos fermentados engloba um fenômeno biológico onde microrganismos atuam sinergicamente, garantindo baixo teor de umidade, baixa atividade de água, queda do pH e sem o uso do frio para conservação (AMERLING, 2001). Sendo assim, embutidos fermentados são resultado da fermentação láctica da carne, com adição de sal, especiarias e agentes de cura (BERAQUET, 2005).

Estes produtos podem ser classificados como secos ou semi-secos, de acordo com a quantidade de água no processamento. Embutidos secos possuem no máximo 40% de umidade, não são cozidos, podem ou não serem defumados e a maturação é feita a temperaturas baixas entre 5 e 25°C, enquanto os semi-secos possuem no máximo 55%, são defumados e se diferem pelo sabor mais picante e textura menos rugosa (JAY, 2005; BRASIL, 2000).

A etapa de fermentação é a mais importante no processamento de embutidos fermentados, aumentando a segurança dos alimentos pela degradação de compostos tóxicos, como aflatoxinas e ocratoxinas, ou pela produção de substâncias antimicrobianas que auxiliam na eliminação de microrganismos patogênicos que comprometem o produto (MOTARJEMI, 2002).

Entre os embutidos fermentados pode-se citar salame, pepperoni, linguças, copa, lombo defumado e pastrami, os quais são comercializados prontos para consumo e armazenados em temperatura ambiente. Entre estes produtos, o salame

é o mais consumido e produzido em larga escala no Brasil, mas também está entre um dos produtos mais suscetíveis à presença de fungos filamentosos (desejáveis ou não), uma consequência natural de seu processamento. Contudo, necessita-se que padrões de qualidade e microbiológicos sejam seguidos para garantir um produto próprio e seguro para consumo, além de controlar o desenvolvimento de fungos filamentosos deteriorantes e patogênicos.

4.2 Salame

Segundo Instrução Normativa nº22 de 2000 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), entende-se por salame, o produto cárneo industrializado obtido de carne suína ou suína e bovina adicionado de toucinho, ingredientes, embutido em envoltórios naturais e/ou artificiais, curtido fermentado, maturado, defumado ou não e dessecado (BRASIL, 2000). Produzido pelo processo de cura e fermentação láctica, na presença de coadjuvantes tecnológicos, como o ácido ascórbico, açúcar e polifosfato, que asseguram maior estabilidade, durabilidade e vida de prateleira do produto (LIMA, 2009).

A produção de salame é realizada em grande escala por muitas indústrias. Em geral, elaborado predominantemente com carne suína, mínimo de 50% ou 60%, dependendo do tipo. Segundo legislação brasileira, são descritos oito tipos existentes de salames: Salame tipo Alemão, Salame tipo Calabres, Salame tipo Friolano, Salame tipo Hamburguês, Salame tipo Italiano, Salame tipo Napolitano, Salame tipo Milano e Salaminho. E conforme os critérios como granulometria média, calibre, ingredientes de formulação, processamento e tempo de maturação é possível denominar e diferenciar cada tipo existente (BRASIL, 2000).

Internacionalmente, os salames brasileiros se diferem dos europeus devido sua acidez ser mais suave, pH em torno de 5,2 a 5,4, e pelas características da matéria-prima, consequência da criação, alimentação e abate. Ressalta-se também, o desenvolvimento da tecnologia de defumação, sendo que na Europa os salames não recebem esse tipo de tratamento (MACEDO, 2005; TERRA, 2004).

Para Galli (1993), o salame é caracterizado por suas propriedades microbiológicas, organolépticas e químicas, e é diferenciado dos demais embutidos pelo baixo teor de umidade e acúmulo de ácido láctico decorrente da fermentação

durante o processo de maturação, resultando em sabor característico e alto valor agregado.

A garantia de segurança microbiológica e preservação do produto depende de vários fatores fundamentais, incluindo baixa atividade de água, presença de cloreto de sódio e nitrito de sódio, baixo pH e presença de substâncias antimicrobianas, como bactéria ácido lácticas, fungos não toxigênicos e enzimas, adicionadas durante o processamento ou formadas no período de maturação (FREO; REOLON, 2006).

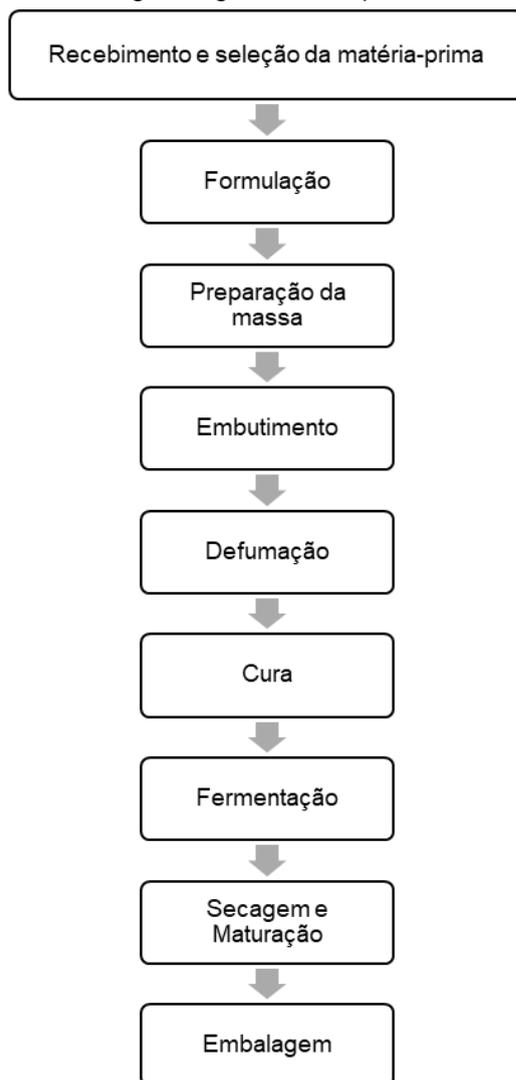
Sais de cura com cloreto de sódio, nitratos ou nitritos de potássio ou sódio, possuem efeito significativo na proteção antimicrobiana e contra a oxidação lipídica, além de favorecer no resultado das propriedades sensoriais. O cloreto de sódio age diminuindo a quantidade de água existente, auxiliando na proteção antimicrobiana e sabor do produto. O nitrito, está relacionado a obtenção da cor vermelha e sabor da carne, enquanto o nitrato, sendo uma fonte de nitrito, favorece a ação das bactérias reductoras em pH ácido (CHAVES, 1980).

A cor, sabor e aroma são características sensoriais do salame mais relevantes e decisivas no momento de compra. Uma parcela considerável de consumidores inclui o salame em seu hábito alimentar, proporcionando significativa expansão do consumo e alta competitividade no mercado do mundo inteiro (TERRA et al., 2002).

4.3 Elaboração de Salame

As fases envolvidas na elaboração do salame podem ser resumidas em: seleção, formulação, tratamento e moagem da matéria-prima (preparação da massa), embutimento, defumação, cura, fermentação, secagem e maturação do salame, descritas em Figura 1. Em todos os estágios devem prevalecer condições higiênicas rigorosas para não ocorrer contaminação microbiana do produto final, o que poderia causar a sua deterioração, bem como torná-lo impróprio para o consumo (SILVA et al., 2016).

Figura 1 - Fluxograma genérico do processamento do salame.



Fonte: Elaborado pela autora com base nos dados de Terra (2004).

4.3.1 Formulação

Tradicionalmente, utiliza-se carne suína ou suína e bovina, de preferência originadas de animais adultos, devido à maior quantidade de mioglobina proporcionando uma coloração mais acentuada. A carne deve ser manipulada em condições de segurança e higiene, para evitar possíveis problemas no processamento e de saúde pública, como o crescimento de microrganismos indesejáveis que prejudicam a fermentação e resulta em um produto final de péssima qualidade e impróprio para consumo (AGUIAR, 2000).

Além da importância da composição da carne, a gordura tem um grande papel na produção do salame. Esta deve ser de qualidade e, por isso, é retirada da região lombar do suíno, mais conhecida como toucinho, por conter menor

quantidade de ácidos graxos insaturados, permitindo que se mantenha e se solidifique em temperatura ambiente (NOBILE et al., 2009). Gorduras com alto grau de insaturação causam rancificação pelo seu potencial de oxidação, afetando na fase de moagem, formando uma película de gordura impedindo a perda de água, e alterando o sabor e aroma do produto final (JAY, 2005).

Aditivos cumprem diversas funções e são participantes na obtenção das características do produto final. Contudo, é fundamental que haja na formulação do salame a adição de sais de cura, antioxidantes, açúcares, culturas *starters* e especiarias (MORATALLA et al., 2011).

O sal, cloreto de sódio (NaCl), quando adicionado no alimento tem ação conservante, precipita as proteínas, aumenta a capacidade de retenção de água, conseqüentemente a atividade de água e dificulta a ação de microrganismos. Segundo Jay (2005), para que ocorra a cura é adicionado os sais de cura, como o nitrito e nitrato de sódio e/ou potássio. Por ação microbiana acontece a transformação de nitrato para nitrito, sendo responsável pela cor vermelha dos produtos curados. O nitrito age em combinação com a mioglobina após a redução do ácido nítrico (NO) para formar a nitrosomioglobina, resultando estabilidade da cor, melhoria da textura, desenvolvimento do sabor característico dos produtos curados e também, ação antimicrobiana contra *Clostridium botulinum* e *Clostridium perfringens*.

O ácido ascórbico e o sorbato de potássio são agentes antioxidantes usados como coadjuvantes de cura (BOZKURT; ERKMEN, 2002). Em ação conjunta com sais de cura, os agentes antioxidantes atuam na redução de nitritos residuais, pois estes se neutralizam, conseqüentemente, diminuem a formação de nitrosaminas, as quais possuem potencial carcinogênico. Com o intuito de melhorar a qualidade, contribuir na vida útil e agregar aroma e sabor, é adicionado especiarias ao produto. Estas especiarias, como alecrim, noz moscada, pimenta branca e preta, páprica doce, alho, orégano, sálvia e cravo-da-índia, devem estar ausentes de contaminantes biológicos, químicos ou físicos para não comprometerem a qualidade do alimento (TERRA, 2004).

Para padronizar a qualidade e garantir segurança do produto final, são inoculadas culturas puras de microrganismos, mais conhecidas como culturas *starters*. Estas culturas consistem em uma mistura de mais de um microrganismo que somam suas ações para agirem no controle de microrganismos deteriorantes e patogênicos, e são divididas em dois grupos. O primeiro grupo produz enzimas que

contribuem na redução do nitrato e nitrito e, conseqüentemente, na coloração do produto sendo formado pelos gêneros *Staphylococcus* e *Micrococcus*, por leveduras *Debaryomyces* e fungos filamentosos *Penicillium*. O outro grupo, formado por *Lactobacillus* e *Pediococcus*, é responsável pela produção do aroma e sabor através da fermentação, e pela acidificação (JESSEN, 1995).

O tipo de açúcar é determinado de acordo com a cultura *starter* utilizada no processo. Os açúcares são fermentados gerando o ácido láctico, fundamental no abaixamento do pH, reduzindo o aparecimento de microrganismos indesejáveis durante o processamento (TERRA, 2004). Em salames, preferem-se açúcares de baixo peso molecular como a glicose, frutose, sacarose, maltose e lactose, pois são rapidamente metabolizados pelos microrganismos e garantem quantidade suficiente de substrato para a fermentação. A glicose é aproveitada por todos os lactobacilos, enquanto a sacarose e a maltose são fermentadas por cerca de 80 e 29%, respectivamente, dos lactobacilos ou microrganismos. A lactose, não é aproveitada pela maioria das culturas *starters*, mas para a produção de salame tem resultados positivos por agregar sabor mais doce e menos ácido ao produto final (MONFORT, 2002).

4.3.2 Preparação da Massa

A preparação da massa consiste na moagem da carne, juntamente com o toucinho em granulometria específica para cada variedade de salame. A temperatura das matérias-primas, carne e toucinho, deve ser de no máximo 7 e 4°C, respectivamente. A trituração e mistura dos ingredientes e cultura *starter* é realizada em *cutter* simultânea ou consecutivamente (VARNAM, 1998).

Normalmente, é realizada a moagem das matérias-primas cárneas, a adição dos demais ingredientes e a homogeneização em um misturador. Mas em consequência deste modelo de preparação, há comprometimento do produto final com a perda de estrutura devido ao esmagamento da carne e gordura (NASSU, 1999).

4.3.3 Embutimento

A massa curada é mantida em câmara fria, normalmente entre 0 a 1°C, por 12 a 48 horas previamente ao embutimento para proporcionar melhor formação de

cor pela reação dos sais de cura sobre o pigmento da carne (PRICE; SCHWEIGERT, 1994).

O embutimento da massa de salame é realizado em tripas apropriadas, naturais ou artificiais, obrigatoriamente permeáveis à água, permitindo a evaporação da água de forma adequada e conseqüentemente a secagem, e por fim, aderindo à superfície da carne, de forma que não se desprenda conforme o produto seca e se contrai (BERAQUET, 2005).

Antigamente, eram utilizadas tripas do intestino dos suínos, ovinos e bovinos e hoje, ainda desempenham um papel importante nas indústrias, mesmo que 80% das invólucros utilizados são a partir de colágeno e fibras de celulose, devido às características de sensibilidade e permeabilidade à umidade e fumaça. As tripas artificiais possuem melhor resistência e apresentam diferentes calibres: fino com 40mm e grosso com 80mm (HARPER et al., 2012).

Nesta etapa, é necessário observar que a massa cárnea seja embutida adequadamente na tripa para que não afete na qualidade do produto final, como a presença de ar em seu interior e que a massa esteja em temperatura de 0°C durante o embutimento para que não ocorra ou reduza ao máximo o esmagamento da gordura (VARNAM, 1998).

Antes de embutir a massa cárnea, a tripa é hidratada em solução de água e sal (10%). Este procedimento se faz necessário para que a tripa fique mais elástica e resista à pressão do embutimento evitando a ocorrência de rompimento da mesma.

4.3.4 Defumação, Cura, Fermentação e Maturação

Após o embutimento, o produto é encaminhado para fumeiros onde será realizada a defumação em temperatura máxima de 38°C, permanecendo por 30 horas. A defumação, mesmo com a finalidade de aumentar a conservação e melhorar características sensoriais, como textura, aroma e sabor, possui ação conservante limitada, e portanto, deve ser combinada com outros processos de conservação, como a cura, secagem, fermentação e maturação. A fumaça possui substâncias fundamentais para a inibição de microrganismos, sendo estas formaldeído, fenóis, alguns ácidos como o ácido acético e fórmico. A ação inibitória da fumaça age normalmente na superfície do produto, local onde essas substâncias

mais se concentram e, por isso, a defumação é conhecida como um processo de conservação superficial (MATOS, 2009).

Após a defumação ocorre a etapa de cura e secagem, na qual o embutido é levado para câmaras climatizadas, onde umidade do ar e temperatura são controladas, parâmetros essenciais para que aconteça a fermentação de forma adequada. Essa é a etapa mais delicada na produção do salame, devido ao produto estar praticamente fresco e com água, alto risco de contaminação por microrganismos (TERRA et al., 2003).

A cura também é um processo de conservação, utilizado desde a antiguidade, que prolonga a vida útil, desenvolve a cor do produto. É considerado como um processo longo, mas, atualmente, indústrias cárneas estão acelerando o processo de cura na intenção de reduzir custos, em consequência disso, há perdas de características organolépticas do produto, como sabor e aroma.

Temperaturas elevadas aceleram a acidificação, mas em consequência, pode causar inibição do desenvolvimento de microrganismos da família *micrococcaceae*, responsáveis por reduzir o nitrato e nitrito, e então deixar o produto com cor indesejável e ainda sabor e aroma fortes. Além disso, pode favorecer a produção da toxina do *Staphylococcus aureus*, uma enterotoxina, agente responsável pela intoxicação alimentar. Contudo, temperaturas entre 16°C e 18°C resultam em produtos de melhor qualidade, sabor e aroma. Entre 24°C e 26°C todo o processo é acelerado, causando degradação de gorduras, o que é desfavorável ao sabor do produto. (MATOS, 2009; LUCKE, 1998, AMERLING, 2001).

Em relação à umidade relativa da câmara de maturação, ela deve ser suficientemente baixa para iniciar o processo de secagem, evitar o descontrole no desenvolvimento de fungos filamentosos, porém deve ter o cuidado para que não ocorra desidratação excessiva. Mas também, deve ser suficientemente alta para evitar que se forme o endurecimento da camada externa que impede a eliminação da água do interior do salame, prejudicando a qualidade e favorecendo o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis. Nas primeiras 24 horas, a umidade relativa é de aproximadamente 95% e em seguida, cai gradativamente para cerca de 80%, para desenvolvimento da cor adequada e da acidificação (LUCKE, 1998; AMERLING, 2001).

A fermentação pode ser considerada a etapa mais importante de todo processo e é dividida em duas fases. Na primeira fase, ocorre o crescimento e ação

dos microrganismos *Pediococcus* e *Lactobacillus*, promovendo a acidificação e coloração do salame, com a formação de ácido láctico. Com o abaixamento do pH, as proteínas da carne atingem o ponto isoelétrico e ocorre a inibição do crescimento dos microrganismos indesejáveis, como as bactérias gram negativas *Staphylococcus aureus*, *S. typhimurium*, *Clostridium botulinum* e *Listeria monocytogenes*, e assim, favorecendo o aparecimento de bactérias gram positivas. Ao atingir o ponto isoelétrico, ocorre a perda de água, conferindo textura mais firme ao salame. Além disso, é necessário que nesta fase a umidade da câmara deve estar menor que a umidade do interior do salame, entre 85 e 90%, no período de 2 a 4 dias (AMERLING, 2001; LUCKE, 2000).

Geralmente, a temperatura ideal para o desenvolvimento desses microrganismos, está entre 30 e 35°C. A linhagem de *Lactobacillus* se desenvolve em temperaturas entre 15 e 40°C, mesmo apresentando atividade em 5°C, a de *Pediococcus* se desenvolvem entre 15 e 48°C, apresentando atividade até 55°C, já o *Staphylococcus* se desenvolve entre 10 e 45°C, apresentando atividade em 4 a 8°C (BACUS, 1984).

A segunda fase engloba o processo de secagem e maturação. Fase longa de 23 dias, dependendo do produto, com temperatura e umidade da câmara mantidas em 12 a 18°C e 75 a 85%, respectivamente. Nesta fase ocorre maior desidratação e queda de pH, chegando a 0,87 de atividade de água e pH de 5,2 a 5,4, respectivamente. Contudo, essas características propiciam a formação de compostos com aminoácidos e peptídeos que são responsáveis pelo sabor, e a partir dos aminoácidos, formação de amoníacos, aminas, álcoois e aldeídos responsáveis pelo aroma (TERRA, 2004).

A secagem e maturação é uma etapa limitante no processo, pois depende das condições das instalações das câmaras. A maioria das indústrias ainda usam estaleiros de madeira nas câmaras e juntamente com as condições controladas propiciam o desenvolvimento de mofos. Quando mofos se desenvolvem no sistema de climatização, o nível de fungos se eleva e dificulta o controle fúngico (DIJKSTERHUIS & SAMSON, 2007). Contudo, a maturação é um processo caro, por demandar controle especial de temperatura e umidade das instalações, e o custo do produto final está diretamente relacionado com o tempo do processamento (PERRY, 2004).

4.4 Padrões de Qualidade e Microbiológicos para Salames

Os padrões de identidade e de qualidade para embutidos cárneos curados e fermentados são estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e apresentados na Instrução Normativa N°22 de 3 de julho de 2000, alterada pela Instrução Normativa N°55 de 07 de julho de 2003. Segundo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Salame presente no Anexo V desta Instrução Normativa, o salame é definido e são estabelecidas características mínimas de qualidade a serem obedecidas (BRASIL, 2000).

Padrões físico-químicos servem como parâmetros para avaliar a qualidade, além de fornecer informação nutricional do produto (DALLA SANTA, 2008). Em salames, os parâmetros como atividade de água, umidade, gordura, proteína e carboidratos totais, descritos na Tabela 1, são determinados em requisitos máximos e mínimos de acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Salame, presente no Anexo V.

Tabela 1 - Requisitos estabelecidos para salames

Parâmetros	Requisitos
Aw	Máx. 0,92
Umidade	Máx. 40%
Gordura	Máx. 35%
Proteína	Mín. 20%
Carboidratos totais	Máx. 4%

Fonte: Brasil (2000).

Os padrões microbiológicos, estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), publicados na Instrução Normativa N°161 de 1 julho de 2022, define limites para a presença de microrganismos em alimentos seguindo adequação aos requisitos de instruções de preparo, uso e conservação obrigatórias estabelecidos na RDC n° 727, de 1° de julho de 2022. Em garantia de segurança e condições próprias para o consumo humano, são mencionados, conforme Tabela 2, padrões a serem atendidos em produtos cárneos curados, como os diversos tipos de salame (BRASIL, 2022).

Tabela 2 - Padrões microbiológicos para produtos cárneos maturados

Microrganismo	Limite para amostra iniciativa
<i>Salmonella sp.</i> /25g	Ausência
<i>Escherichia coli</i> /g	Menor que 10
Estafilococos coagulase positiva/g	10 ²

Fonte: Brasil (2022).

Toda cadeia produtiva, desde a produção da matéria-prima até o armazenamento do produto, requer cuidados específicos, como o controle de umidade e temperatura, higienização de equipamentos e de manipuladores, para que o desenvolvimento de microrganismos deteriorantes e patogênicos seja controlado.

4.5 Microbiologia de Produtos Cárneos Curados e Fermentados

Os sais de cura e as etapas do processo de fabricação de produtos cárneos curados e fermentados favorecem a inversão microbiana, ou seja, o crescimento de bactérias Gram-positivas mesmo em presença de aeróbios Gram-negativos, contribuindo na *shelf life* do produto final (BACUS, 1984).

Devido ao sal e nitrito presentes na formulação, muitos patógenos não se desenvolvem em carnes curadas. A inibição de patógenos também está relacionada ao desenvolvimento das bactérias ácido-láticas, devido à produção de ácido e, conseqüentemente, à redução do pH. Entretanto, pode ocorrer desenvolvimento de microrganismos antes dessa redução do pH, como o crescimento de *Staphylococcus*, responsável por muitos casos de intoxicação alimentar em produtos curados e fermentados (FORSYTHE, 2002).

Leveduras e fungos filamentosos são comumente identificados em produtos curados e fermentados, além dos microrganismos do gênero *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* e *Microbacterium*, sejam eles indesejáveis ou necessários para o processamento do produto (LUCKE, 1998).

4.5.1 Microrganismos Deteriorantes e Patogênicos

As condições de elaboração de produtos cárneos curados e fermentados, como o salame, são fatores essenciais para quantificar e identificar microrganismos que se desenvolverão. Devido à composição e características físico-químicas, a carne é considerada ótimo meio de cultura para microrganismos deteriorantes e os produtos embutidos fermentados são de alta severidade quando se trata de patogênicos, mesmo que o risco seja moderado (FORSYTHE, 2002; LUCKE, 1998).

O desenvolvimento de microrganismos na superfície e interior do produto está relacionado à deterioração da carne, pois antes de se transformar em carne, o músculo é estéril até o momento de corte. Os tipos de deterioração e patogenia são identificados de acordo com a atmosfera, temperatura e umidade relativa do meio de conservação dos produtos (HOLLEY & GILL, 2005).

Em salames, geralmente são identificadas deterioração do tipo: de superfície, por estufamento, acidificação e esverdeamento. A deterioração da superfície de produtos cárneos fermentados é provocada pela grande quantidade de microrganismos, geralmente uma mistura de bactérias ácido lácticas (*Lactobacillus*, *Leuconostoc* e *Streptococcus*), *Micrococcus* e leveduras, responsáveis pela produção de limosidade superficial ao produto. O estufamento se enquadra como deterioração devido à produção de gás a partir da fermentação do açúcar através de bactérias ácido lácticas heterofermentativas (*Lactobacillus* e *Leuconostoc*) e raramente algumas leveduras que produzem dióxido de carbono. Também provocada por bactérias ácido lácticas, a deterioração por acidificação acontece devido ao abaixamento do pH, já a deterioração por esverdeamento ocorre pelo resultado da oxidação química, produzindo peróxidos de hidrogênio que atacam os hemepigmentos e promovem a descoloração/esverdeamento da carne (FORSYTHE, 2002; SANTA, 2008).

4.5.2 Importância de Leveduras e Fungos Filamentosos

As leveduras são consideradas importantes em produtos cárneos curados e fermentados, devido a sua capacidade de desenvolvimento e multiplicação em baixas temperaturas, altas concentrações de sal e baixas tensões de oxigênio. *Debaromyces hanseii* é a principal levedura utilizada para cultura *starter* desses produtos, sendo caracterizada pela sua alta resistência ao sal e ao nitrato e pela

grande exigência de oxigênio. Assim, a baixa atividade de água e pH se tornam os principais fatores de seleção da microbiota leveduriforme em produtos cárneos curados e/ou fermentados (VIEIRA, 2005).

Na maturação, as leveduras contribuem para o desenvolvimento de características organolépticas, como cor e *flavor*. Também atuam na remoção de oxigênio, degradação de peróxidos, atividade lipolítica e proteolítica. Quando presentes na superfície do produto, se tornam agentes protetores contra os efeitos adversos da luz (VIEIRA, 2005; RODEL, SIEBING & KROCKEL, 1994).

Os fungos filamentosos em produtos curados e fermentados se desenvolvem ao longo do processo de maturação, tanto podem ser inoculados na superfície do produto, como podem se desenvolver por contaminação do ar, considerada contaminação natural. A inoculação de microrganismos na superfície pode ser efetiva e desejável, promovendo a proteção contra a luz e entrada de ar, a redução do risco de extremidade seca ocasionado pela perda de água e a proteção contra colonizações espontâneas de microrganismos indesejáveis. A contaminação natural afeta diretamente a aparência dos produtos, pois fungos filamentosos indesejáveis se desenvolvem, tendo como principal consequência a produção de micotoxinas, metabólitos secundários altamente tóxicos com efeitos agudos e carcinogênicos (LUCKE, 1998; TURNER et. al., 2009).

Tanto no Brasil quanto na Itália, é realizada ao final do processo de maturação a lavagem dos salames, resultando na remoção dos fungos da superfície. lacumin *et al.* (2009) verificaram que o método no qual o salame é escovado e lavado reduz a contaminação de Ocratoxina A para valores inferiores ao limite de detecção do método analítico usado ($< 0,1 \mu\text{g}/\text{kg}$ quando analisado por cromatografia líquida com detecção por fluorescência). Além disso, os autores concluíram que a presença de ocratoxina na tripa do salame não representaria um risco para a saúde do consumidor, visto que a mesma não se dissemina pela carne.

4.6 Desenvolvimento de Fungos Filamentosos em Salame

O desenvolvimento de fungos filamentosos (bolores) em salames, comumente na superfície, é dificilmente evitável e considerado um fator de qualidade, complementando o processo de maturação e tendo um papel importante no aroma, cor e sabor do produto final. Além de ocasionarem alterações

organolépticas, podem representar um problema à saúde pública devido às toxinas produzidas (BRUSTOLIN, 2009).

Durante a maturação, os fatores mais relevantes no desenvolvimento de microrganismos são o controle das condições ambientais das câmaras climatizadas e a disponibilidade de matéria orgânica. Os fungos filamentosos preferem ambientes com umidade relativa alta, porém esporulam e permanecem em ambientes desidratados como forma de resistência. Geralmente, dependem da interação com oxigênio, atividade de água, umidade, temperatura e pH para se desenvolverem. Contudo, a maioria são aeróbios, capazes de se adaptar em baixos valores de atividade de água, com umidade relativa superior a 70% e crescem em temperaturas entre 20 e 30°C (MATOS, 2009).

Os fungos filamentosos de recobrimento das peças pertencem aos gêneros *Penicillium* e *Aspergillus*, variando as colorações que vão do branco ao verde. A cobertura com fungos filamentosos deve ser uniforme, preferencialmente esbranquiçadas ou acinzentadas, e isenta de colorações verdes, azuis, amarelas, marrons ou pretas, desempenhando papel importante na qualidade do produto. Os verdes e azuis são preocupantes, porém os amarelos, marrons e pretos são totalmente indesejáveis, inclusive o último determina o aparecimento de danos à tripa (TERRA, 1998). De maneira geral, os fungos filamentosos brancos ou cinzas são do gênero *Penicillium*, sendo *Penicillium nalgiovense* o mais comum, os verdes também são *Penicillium* ou *Aspergillus*, já as manchas marrons e pretas são causadas por *Cladosporium*, *Alternaria* ou *Aspergillus* (CASTRO et al., 2000). Além disso, algumas espécies de *Penicillium*, como a *P. stoloniferum*, são responsáveis pelo escurecimento de peças de salame (DRAGONI et al., 1986).

O crescimento de fungos filamentosos desejáveis, diferenciados dos indesejáveis pelas colorações branca ou cinza, previnem a rancificação e degradação da cor pela atividade de catalases, consumo de oxigênio e proteção contra a luz (BACUS, 1986), contribuem no sabor típico final devido a degradação do ácido láctico (LUCKE, 1998), permitem uma secagem mais uniforme, reduzindo o risco do desenvolvimento da camada externa seca (CASTRO et al., 2000), protegem contra novas colonizações de fungos filamentosos e bactérias indesejáveis (LUCKE, 1998) e facilitam a retirada da tripa (GRAZIA et al., 1986). Os fungos filamentosos indesejáveis, nas colorações verde, amarelo, marrom ou preto, podem

ser capazes de produzir micotoxinas de potencial carcinogênico, com efeitos crônicos e degenerativos no fígado (SAMSON et al., 1995).

A produção de micotoxinas é favorecida pela presença de oxigênio, temperatura entre 4 e 40°C, Aw mínima de 0,8, pH em torno de 2,5 e 8 e concentração máxima de NaCl de 14%. Como a microbiota natural das câmaras de maturação de salames é formada predominantemente pelo gênero *Penicillium*, e este gênero tem capacidade de produção toxigênica de 70 a 80%, portanto, é possível encontrar frequentemente micotoxinas nos produtos. Fungos filamentosos pertencentes aos gêneros *Penicillium* e *Aspergillus* são potenciais produtores de micotoxinas, entre elas, ocratoxina A (OTA), patulina, e roquefortina (ANDERSEN, 1998; CASTRO et al., 2000). Embora a OTA seja a micotoxina mais frequentemente encontrada, o ácido ciclopiazônico (CPA) também foi detectado em salame, sendo este produzido por cepas de *Penicillium commune*, *Penicillium griseofulvum* e *Penicillium nordicum* (OSTRY et al., 2019).

Segundo Parussolo (2018), foram encontrados, de acordo com a Tabela 3, os gêneros de fungos filamentosos em superfícies de salames de fábricas da região sul do Brasil e embora não tenha sido testada a capacidade toxigênica entre os isolados, sabe-se que a espécie *Aspergillus westerdijkiae* produz OTA.

Tabela 3 - Fungos filamentosos de maior frequência, isolados de salames e do ar circulante em câmaras de maturação de fábricas da região sul do Brasil.

Isolados	Ocorrência em salames	Ocorrência em ar circulante
<i>Penicillium glabrum</i>	+	+
<i>Cladosporium sp.</i>	+	+
<i>Penicillium brevicompactum</i>	+	+
<i>Penicillium spinulosum</i>	+	+
<i>Aspergillus westerdijkiae</i>	+	+
Levedura	+	-

Fonte: Adaptado de Parussolo (2018).

Contudo, além das perdas devido à deterioração, os fungos filamentosos indesejáveis com colorações verde, amarelo, marrom ou preto, geram uma grande preocupação para a saúde dos consumidores do produto. Para inibir o

desenvolvimento desses microrganismos deteriorantes e patogênicos, é necessário utilizar estratégias de controle durante o processo de fabricação de salame.

4.7 Controle do Desenvolvimento de Fungos Filamentosos

A presença de fungos filamentosos na superfície do salame além de acarretar em perdas de produção e preocupação para a saúde, diminui a sua atratividade por parte dos consumidores. Por conta disso, muitas indústrias incluem uma nova etapa no processo de elaboração do salame, a lavagem ou retirada das tripas das peças pós maturação. A inclusão desta nova etapa, resulta em perdas, eleva o custo de produção e também altera o prazo de entrega do produto, portanto, buscam-se novas estratégias de controle do desenvolvimento dos fungos filamentosos.

O uso da natamicina, enzimas, ionização de ar e agentes de biocontrole são alternativas que vêm sendo estudadas para o controle destes microrganismos indesejáveis na superfície de salames.

4.7.1 Natamicina

A natamicina, também conhecida como pimaricina, é um grande e potente inibidor de fungos filamentosos e leveduras. Possui forma cristalina, sua fórmula molecular é $C_{33}H_{47}NO_{13}$. Sua utilização tem sido recomendada em alimentos sólidos que possuem casca ou envoltório que não é ingerida, como no caso de embutidos cárneos. É efetiva contra uma extensa lista de fungos filamentosos e leveduras, melhorando sua qualidade, como a aparência e validade do produto (OBREGON, 2004).

É um composto de baixa toxicidade, não alergênico, produzido pela fermentação realizada com *Streptomyces natalensis*. Age combinando-se com o ergosterol e o 24 e 28-dehidroergosterol, componentes da membrana celular do bolor, produzindo uma mudança na permeabilidade da mesma, o que provoca a perda de materiais celulares essenciais. Estes componentes não estão presentes em bactérias, portanto, a natamicina não tem efeito sobre bactérias (OBREGON, 2004).

A natamicina reduz o risco de produção de micotoxinas, não afeta na cor, sabor e aroma dos alimentos, e também, não interfere na atividade das culturas *starters* de produtos fermentados. Os microrganismos indesejados não desenvolvem

resistência ao composto, sendo assim, muito mais efetivo seu uso que compostos químicos em mínimas concentrações (OBREGON, 2004; TORRES, 1997).

De acordo com a Resolução nº28 de 2001 da ANVISA, é permitido o uso da natamicina, (INS 235), como conservador, para tratamento de superfícies de produtos cárneos embutidos no limite máximo de 1 mg/dm², ausente em 5 mm de profundidade (BRASIL, 2001).

Segundo Delves-Broughton et al. (2006), a efetividade do uso da natamicina depende da sua solubilidade em solução aquosa, visto que a mesma pode se degradar, perdendo sua eficiência devido ao aumento da carga fúngica no produto e assim, podendo causar a formação de micosamina, aponatamicina e di-nataminoldediol, compostos sem atividade antimicrobiana.

A natamicina é encontrada de diversas formas, seja em pó, seja líquida. A mais utilizada pelas indústrias é em pó, adicionada em soluções de imersão ou pulverização da superfície dos salames, ou também, em soluções salinas para hidratação das tripas naturais ou artificiais. A natamicina líquida é uma nova tecnologia que implica na utilização da natamicina juntamente com o espessante hidroxipropilmetil-celulose. Com o objetivo melhorar o desempenho e redução de custos, estas aplicações também proporcionam melhor aderência e, conseqüentemente, uma maior homogeneidade da natamicina na superfície dos salames (THOMAS, 2003).

Brustolin (2009) avaliou o uso de natamicina em pó nas concentrações de 0,1, 0,05 e 0,025% para o controle de fungos em salame tipo italiano. A natamicina em pó 0,1%, tanto por imersão ou aspersão, apresentou melhor eficiência para a redução da contagem de fungos, além de ser a única concentração que não resultou em valores de atividade de água superiores ao valor máximo, de acordo com a legislação vigente, que é de 0,92. Em reflexo disso, não interferiu nas características físico-químicas e sensoriais e resultou no menor crescimento de fungos filamentosos na superfície dos produtos após processo de maturação.

Vieira et al. (2013) avaliaram o uso de natamicina, por imersão, em concentrações de 0,1, 0,3 e 0,5% e obtiveram melhores resultados para concentrações de 0,5% devido à redução significativa de fungos filamentosos indesejáveis nos salames. Além disso, a aceitação global foi menor nos salames tratados com natamicina a 0,1%, em função do sabor ácido relacionado à quantidade de fungos verificados nos salames que receberam este tratamento. Os

autores verificaram que quanto maior o crescimento de fungos filamentosos maior a probabilidade de alterações indesejáveis ao produto. A escolha da utilização de natamicina, seja por imersão ou aspersão, depende basicamente do processo de fabricação do salame. A aplicação por aspersão, normalmente, utiliza uma menor quantidade de natamicina, porém sua desvantagem é que se não for aplicada de maneira uniforme ocorrerá o desenvolvimento de fungos filamentosos.

De acordo com a Tabela 4, são demonstrados os resultados obtidos por Brustolin (2009) e Vieira et al. (2013) em 7, 14, e 21 dias da aplicação do método no processo de maturação de salames do tipo Italiano.

Tabela 4 - Contagem de fungos filamentosos em salame do tipo Italiano em 7, 14 e 21 dias de maturação.

Contagem de fungos filamentosos (UFC/g)				
Concentração de Natamicina	7 dias	14 dias	21 dias	Referência
Amostra padrão 0%	7,40E+03	1,25E+05	7,50E+06	Brustolin (2009)
0,025%*	1,12E+06	3,20E+06	5,50E+06	Brustolin (2009)
0,05%*	3,60E+03	1,60E+05	1,00E+06	Brustolin (2009)
0,1%*	4,80E+02	5,60E+04	1,00E+05	Vieira et al. (2013)
0,1%**	4,55E+01	2,80E+04	5,50E+04	Vieira et al. (2013)
0,3%*	5,35E+03	1,00E+02	6,10E+02	Vieira et al. (2013)
0,5%*	< 10	3,00E+02	5,75E+03	Vieira et al. (2013)

* Uso de natamicina por imersão **Uso de natamicina por aspersão na superfície do salame

Fonte: Elaborado pela autora com base nos dados de Brustolin (2009) e Vieira et al. (2013).

4.7.2 Enzimas

O uso de enzimas no controle do desenvolvimento de fungos filamentosos e leveduras em salames vem sendo estudado por vários autores devido ao seu caráter ativo e versátil, realizando transformações de modo seletivo e rápido. As indústrias

de alimentos empregam enzimas em processos que são fáceis de controlar, com efetividade energética e de baixos investimentos (DZIEZAK, 1991; COLEN, 2006).

As β -1,3-glucanases e quitinases são enzimas com potencial inibitório no crescimento de microrganismos indesejáveis em salames, capazes de hidrolisar 11 componentes da parede celular dos microrganismos e, por isso, apresentam atividade lítica sobre leveduras e fungos (SELITRENNIKOFF, 2001; RISHAD et al., 2017).

As glucanas são polímeros de açúcar podendo ser de origem vegetal ou animal, como a celulose, pertencente à classe das β -glucanas, e o glicogênio, pertencente à classe das α -glucanas. Geralmente, são encontradas em leveduras e em maior quantidade na parede celular desses microrganismos (ZOBEL, 2006).

As β -1,3-glucanases participam diretamente do processo de controle biológico porque hidrolisam β -1,3-1,6-glucanas constituintes da parede celular de alguns patógenos, sendo uma alternativa promissora na indústria de alimentos (BAUERMEISTER et al., 2010; FLEURI & SATO, 2008).

Diferentemente da parede celular das leveduras, a dos fungos é composta principalmente por quitina, assim é suscetível ao emprego de enzimas quitinolíticas. A quitina é um polímero linear composto por resíduos de N-acetil-D-glucosamina (GlcNAc), insolúvel em água e apresenta duas formas, α e β , sendo a β -quitina menos comum (AAM et al., 2010).

As enzimas quitinolíticas são empregadas tanto na indústria como na agricultura, utilizadas no controle de fungos patogênicos. Possuem dupla função durante a colonização dos fungos, metabolizam a quitina na degradação e síntese da parede celular e permitem o desprendimento de oligo-N-acetil glucosaminas (GOHEL et al., 2006).

A aplicação de β -1,3-glucanases e quitinases tem um papel importante em retardar ou diminuir o crescimento de fungos deteriorantes em frutos, podendo também ser promissoras para o controle de fungos filamentosos na superfície de produtos cárneos curados (XU & TIAN, 2008). Pesquisas relataram o efeito inibitório em salames com a inoculação das enzimas β -1,3-glucanases e quitinase na superfície dos produtos. Cence et al. (2019) verificaram que β -glucanase e quitinase usadas na concentração de 50%, independente da concentração de esporos fúngicos, foram eficientes no controle do crescimento de *Penicillium simplicissimum*, *Aspergillus niger* e *Aspergillus flavus* na superfície do salame, conforme resultados

demonstrados na Tabela 5. Mesmo que a concentração de 50% seja aparentemente alta, as enzimas são reconhecidas como seguras para uso em alimentos.

Tabela 5 - Efeito inibitório de 50% de β -1,3-glucanase e quitinase sobre o crescimento dos microrganismos com inóculo na concentração de 10^5 e 10^3 esporos/mL.

50% de β -glucanase						
Fungo	Esporos/ mL	Crescimento Celular (UA)				
		24h	48h	72h	96h	115h
<i>Penicillium simplicissimum</i>	10^5	<0,01	<0,01	<0,01	0,05	0,12
	10^3	<0,01	<0,01	<0,01	0,13	0,24
<i>Aspergillus niger</i>	10^5	<0,01	<0,01	<0,01	0,13	0,14
	10^3	<0,01	<0,01	<0,01	0,07	0,17
<i>Aspergillus flavus</i>	10^5	<0,01	<0,01	<0,01	0,13	0,16
	10^3	<0,01	<0,01	0,06	0,20	0,33
50% de quitinase						
Fungo	Esporos/ mL	Crescimento Celular (UA)				
		24h	48h	72h	96h	115h
<i>Penicillium simplicissimum</i>	10^5	<0,01	0,14	0,37	0,57	0,76
	10^3	<0,01	0,04	0,17	0,49	1,06
<i>Aspergillus niger</i>	10^5	<0,01	0,37	0,81	0,58	0,67
	10^3	<0,01	0,12	0,51	0,92	1,08
<i>Aspergillus flavus</i>	10^5	<0,01	0,18	0,48	0,49	0,72
	10^3	<0,01	<0,01	0,30	0,37	0,57
Amostra padrão 0%						
	Esporos/ mL	Crescimento Celular (UA)				
		24h	48h	72h	96h	115h
<i>Penicillium simplicissimum</i>	10^5	<0,01	0,17	0,40	1,58	1,82
	10^3	<0,01	0,16	0,52	1,26	1,51

Amostra padrão 0%						
	Esporos/ mL	Crescimento Celular (UA)				
		24h	48h	72h	96h	115h
<i>Aspergillus niger</i>	10 ⁵	<0,01	0,12	0,47	1,04	1,02
	10 ³	<0,01	0,12	0,39	1,00	0,97
<i>Aspergillus flavus</i>	10 ⁵	<0,01	0,19	0,48	1,20	1,17
	10 ³	<0,01	0,17	0,33	0,88	1,26

Fonte: Elaborado pela autora com base nos dados de Cence et al. (2019).

O interesse na utilização dessas enzimas no controle de desenvolvimento de fungos se dá pela quitinase atuar diretamente no início do desenvolvimento dos microrganismos e a β -1,3-glucanase em todos os estágios do ciclo de vida, incluindo a autólise, dos fungos, apresentando resultados microbiológicos e visuais satisfatórios em salames (WHITE et al., 2002; CENCE et al., 2019).

4.7.3 Ionização do Ar

A ionização do ar é uma tecnologia utilizada para a eliminação de microrganismos patogênicos. Implica em carga negativa para as partículas em suspensão, que serão removidas do ar devido a atração dessas partículas em direção a superfície do produto (BAGGIO et al., 2020).

Os ionizadores promovem precipitação das partículas em suspensão no ar, conseqüentemente, através da produção do radical ânion superóxido hidratado, inibem o crescimento microbiano de forma direta (CHOULIARA et. al, 2006).

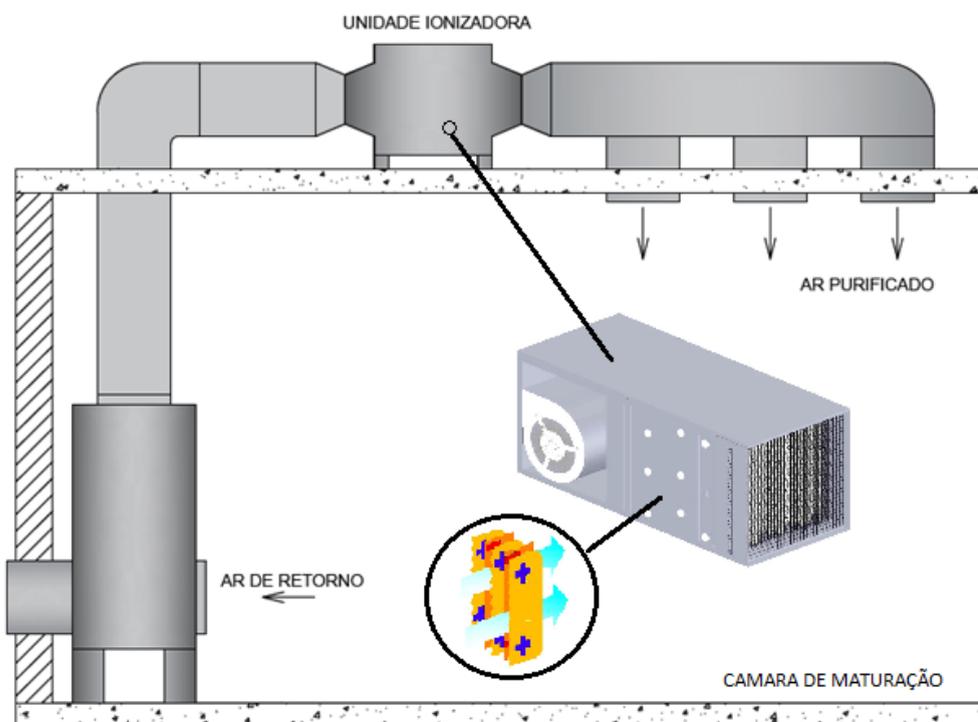
A formação do radical ânion superóxido dá-se através do contato entre um elétron e o oxigênio puro. Esse superóxido é de extrema importância para o homem, pois as células humanas o produzem continuamente com a finalidade de combater microrganismos indesejáveis e patogênicos (ARNOLD, 2002).

A inibição do crescimento de bactérias e mofos nas superfícies é promovida tanto por íons positivos quanto negativos, porém para efeito esterilizante os íons negativos têm ação destacada. O uso combinado de íons negativos e ozônio é mais eficaz do que a aplicação desses tratamentos isoladamente demonstrando a

sinergia entre eles. Contudo, o efeito inibitório depende da concentração de íons do ar, o tempo de exposição e altura do equipamento nas câmaras (LEE, 2004; BAGGIO et al.,2020).

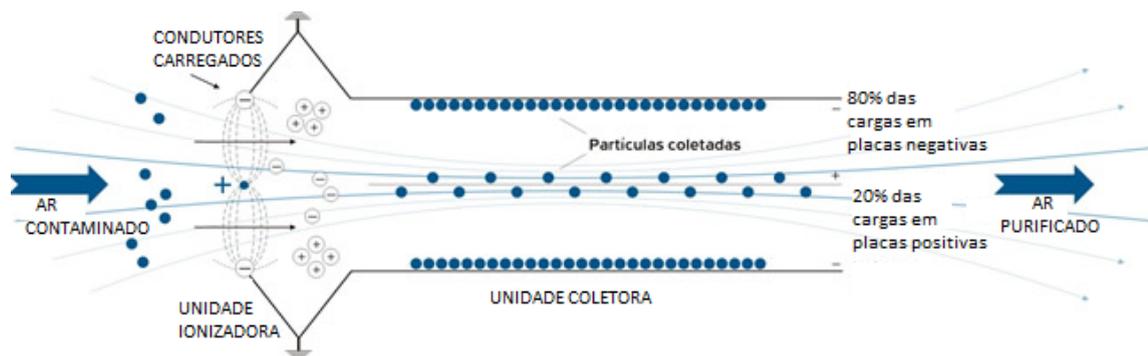
O uso dessa tecnologia em salames requer alto custo adicional para a sua implementação nas câmaras de maturação, onde o equipamento é instalado e mantido ligado durante todo o tempo de processo, resultando em baixas contagens de fungos filamentosos e sem alterações de características sensoriais no produto tanto no produto final quanto após o *shelf life*. O equipamento ionizador, demonstrado na Figura 2, é constituído por tubos de ionização e um ventilador que proporciona o movimento do ar, estes tubos contêm filtro eletrostático com condutores carregados que removem 20% das cargas em placas positivas e 80% das cargas em placas negativas resultando no ar purificado, livre de bactérias e fungos indesejáveis, conforme Figura 3. As cargas removidas são contidas nas placas coletoras, no entanto, para ter uma eficácia a longo prazo do processo de ionização, requer uma limpeza regular do equipamento em intervalos de aproximadamente 2 dias para esta aplicação (HOLT et al., 1999, VIEIRA, 2013).

Figura 2 - Funcionamento da ionização do ar em câmaras de maturação.



Fonte: Adaptado de Arwek® (2022).

Figura 3 - Funcionamento do filtro eletrostático contido nos tubos de ionização.



Fonte: Adaptado de Arwek® (2022).

Liang et al. (2012) concluíram que a ionização do ar é um método eficiente para inativar microrganismos como *Penicillium* em indústrias de alimentos. A técnica utilizada pelos autores é a descarga corona positiva atmosférica, na qual ioniza o ar por altos potenciais dentro do dispositivo de carga e eletrodos se desenvolvem do positivo para negativo.

Baggio et al. (2022) provaram que um dispositivo com produção constante de mais de 10^6 íons/cm³ produz efeito antimicrobiano contra microrganismos do gênero *Penicillium*, *Escherichia*, *Saccharomyces*, *Bacillus*, *Listeria* e *Pseudomonas*. Esta tecnologia provou afetar a viabilidade microbiana garantindo a segurança dos alimentos através da descontaminação do ar e das superfícies dos alimentos.

Além disso, a ionização do ar é considerada uma tecnologia verde, pois não deixa resíduos químicos e possui efeitos bactericidas que contribuem para a morte de várias espécies microbianas. Porém, a implementação e manutenção desta tecnologia necessita de investimentos elevados para a indústria alimentícia.

4.7.4 Controle Biológico

Produtos seguros, de alta qualidade, com menos aditivos e conservantes são de crescente interesse do consumidor e tem estimulado a indústria alimentícia e pesquisadores a buscar novas tecnologias a fim de manter a segurança desses produtos por meios naturais. O controle biológico é uma alternativa promissora para minimizar o desenvolvimento de fungos toxigênicos em salames (BALCIUNAS et al., 2013).

Microrganismos como agentes protetores devem agir de maneira antagônica em relação às espécies alvo, não alterar características sensoriais e nutricionais do produto e serem seguros à saúde. Contudo, em produtos cárneos curados e fermentados, o uso de culturas protetoras, fungos filamentosos não toxigênicos e leveduras, têm-se mostrado eficazes como agentes de biocontrole, resultando na diminuição de microrganismos deteriorantes e patogênicos (ÁLVAREZ et al., 2021).

Nas últimas décadas, a crescente aplicação de culturas iniciadoras exibiu atividade inibitória contra os principais patógenos de origem alimentar. As bactérias ácido lácticas, usadas como culturas iniciadoras e consequentemente protetoras, possuem a capacidade inibitória contra o crescimento de *Penicillium nordicum*, *Clostridium* spp. e a produção de Ocratoxina A (OLIVEIRA et al., 2018). Guimarães et al. (2018) relataram que o uso das bactérias lácticas, especialmente *Lactobacillus buchneri*, em produtos cárneos curados pode controlar o crescimento de fungos e micotoxinas, tornando capaz de inibir entre 60 e 100% o crescimento de fungos micotoxigênicos devido a produção de ácido acético.

Penicillium nalgiovense é um fungo não-toxigênico muito utilizado, como cultura *starter*, no controle de contaminantes naturais em câmaras de maturação do salame. É responsável pela cobertura de fungos filamentosos de coloração esbranquiçada, benéfica ao produto por oferecer proteção contra micotoxinas e por não alterar as características sensoriais, apresentando crescimento rápido e colonização quase completa nas peças de salame (CASTRO et al., 2000).

Entre as leveduras, a *Debaryomyces hansenii* é a mais utilizada industrialmente no processo de maturação de salames e possui capacidade de redução entre 21 e 100% das quantidades de OTA em produtos cárneos curados. Esta levedura produz compostos voláteis com potencial antifúngico, além de competir por espaço e nutrientes. A combinação desses fatores, leva à inibição do crescimento de *Penicillium verrucosum*, um dos principais fungos produtores de ocratoxina nestes produtos (PEROMINGO, et al., 2018; DELGADO et al., 2019).

Penicillium chrysogenum é uma das espécies mais isoladas de fungos filamentosos não-toxigênicos em produtos cárneos curados, a qual tem demonstrado ser eficiente no controle do desenvolvimento de fungos toxigênicos e acúmulo de OTA ao longo do processamento desses produtos. Além disso, o *P. chrysogenum* produz uma proteína antifúngica que tem efeito contra fungos produtores de micotoxinas, incluindo *P. nordicum* (RODRÍGUEZ et al., 2015; ÁLVAREZ et al., 2021).

Tanto *P. chrysogenum* quanto *D. hansenii* podem ser agentes de biocontrole efetivos na fabricação de produtos curados e fermentados devido a capacidade de interagir e competir com *P. nordicum*, favorecendo o controle do crescimento fúngico e reduzindo a produção de OTA. No entanto, *D. hansenii* ganha ênfase pela sua capacidade de controlar a OTA em níveis insignificantes (ÁLVAREZ et al., 2021).

Álvarez et al. (2022) demonstraram que o uso da levedura chamada *Debaryomyces hansenii* FHSCC 253H causou uma diminuição na produção de OTA por *Aspergillus westerdijkiae*. A atividade antifúngica de *D. hansenii* provavelmente está relacionada à sua capacidade de reduzir a abundância de várias proteínas envolvidas na produção de OTA.

Portanto, a aplicação do controle biológico além de apresentar diferentes e eficazes atividades antagônicas contra o desenvolvimento de fungos deteriorantes e patogênicos, desenvolve maior aceitação por parte dos consumidores devido a preservação das características do produto e por ser uma alternativa natural.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de natamicina, enzimas, ionização do ar e agentes de controle biológico são alternativas eficazes para o controle fúngico. A natamicina atua no interior da membrana celular dos fungos, contribuindo na perda de materiais essenciais dos mesmos. As enzimas agem desde o início do desenvolvimento dos microrganismos e possuem caráter versátil por não requererem condições extremas de pH e temperatura. A ionização do ar é realizada por instalação de equipamento ionizador nas câmaras, capta cargas do ar contaminado, levando à ionização e o ar volta à forma original, deixando o ambiente livre de patógenos e odores desagradáveis. Os agentes de controle biológico possuem a capacidade de interagir e coexistir em algumas condições ambientais com microrganismos, reduzindo efetivamente a presença de fungos micotoxigênicos.

Embora os diferentes métodos mencionados sejam eficazes no controle do desenvolvimento de fungos filamentosos, a ionização e controle biológico parecem ser os mais aceitos pelos consumidores e de melhores resultados, porém a ionização necessita de alto custo para sua implementação.

6 REFERÊNCIAS

AAM, B.B.; HEGGSET, E.B.; NORBERG, A.L.; SORLIE, M.; VÅRUM, K.M.; EIJSINK, V.G.H. **Production of Chitooligosaccharides and Their Potential Applications in Medicine**. *Marine Drugs*. v. 8, p.1482-1517, 2010.

AGUIAR, D. M. **Embutidos crudos curados españoles**. Ediciones Ayala, Madrid, p.225, 2000.

ÁLVAREZ, M., NUNEZ, F., DELGADO, J., ANDRADE, M. J., RODRÍGUEZ, M., RODRÍGUEZ, A. Competitiveness of three biocontrol candidates against ochratoxigenic *Penicillium nordicum* under dry-cured meat environmental and nutritional conditions. **Fungal Biology**. v.125, p.134-142, 2021.

ÁLVAREZ, M., NUNEZ, F., DELGADO, J., ANDRADE, M. J., RODRÍGUEZ P. Proteomic evaluation of the effect of antifungal agents on *Aspergillus westerdijkiae* ochratoxin A production in a dry-cured fermented sausage-based medium. **International Journal of Food Microbiology**. v. 329, 109858, 2022.

AMERLING, C. **Tecnología de la Carne**. UNED, Universidade Estatal a Distancia, Madrid, p.178, 2001.

ARNOLD, J. W.; MITCHELL, B. W. Use of negative air ionization for reducing microbial contamination on stainless steel surfaces. **Poultry Science Association**, p. 179-186, 2002.

BACUS, J. **Utilization of Microorganisms in Meat Processing**. Research Studies Press LTD, Letchworth. 170p. 1986.

BAGGIO, A., MARINO, M., INNOCENTE, N., CELOTTO, M., MAIFRENI, M. Antimicrobial effect of oxidative technologies of food processing; an overview. **European Food Research and Technology**. v.246, p.669-692, 2020.

BAGGIO, A., MARINO, M., MAIFRENI, M. Effect of negative air ionization technology on microbial reduction of food-related microorganisms. **LWT**. v.169, 113998, 2022.

BALCIUNAS, E. M.; MARTINEZ, F. A. C.; TODOROV, S. D.; FRANCO, B. M. F.; CONVERTI, A.; OLIVEIRA R. P. S. Novel biotechnological applications of bacteriocins: A review. **Food Control**. v32, p. 134-142, 2013.

BAUERMEISTER, A., REZENDE, I. M., GIESE, E.C., BARBOSA, A. beta-(1,3)-Glucanases Fúngicas: Produção e Aplicações Biotecnológicas. *Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas*. Londrina. v.31, n.2, p.75-86, 2010.

BERAQUET, N. J. **Embutidos Fermentados**: Princípios do processamento de embutidos cárneos. Campinas: Centro de Tecnologia de Carnes, maio, 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa N° 22, de 31 de julho de 2000**. Regulamento técnico de identidade e qualidade de salame. 2000. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/>

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa N° 11, de 1 de julho de 2022**. Padrões Microbiológicos dos Alimentos. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/>

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução-RDC N° 28, de 23 de fevereiro de 2001**. Aprova a extensão de uso extensão de uso da Natamicina (Pimaricina) (INS 235), 2001. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/>

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária **Resolução-RDC N° 28, de 23 de fevereiro de 2001**. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. 2001. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/>

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária **Resolução-RDC N° 724, de 1 de julho de 2022**. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/>

BRUSTOLIN, J. C. **Uso de natamicina no controle no desenvolvimento de fungos em salame do tipo italiano**. 2009. 53p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)- Universidade Federal de Santa Maria, 2009.

BOZKURT, H. Utilization of natural antioxidants: green tea extract and Thymbra spicata oil in turkish dry-fermented sausage. **Meat Science**, v. 73, p. 442-450, 2006.

CAPLICE, E.; FITZGERALD, G. F. Food fermentation: role of microorganisms in food production and preservation. **International Journal of Food Microbiology**, v. 50, p. 131-149, 1999.

CASTRO L. C; LUCHESE R. H.; MARTINS J. F. P. Efeito do uso da cepa starter de *Penicillium nalgiovense* na qualidade de salames. **Food Science and Technology**, v.20, n.1, n.p., 2000.

CENCE, K., SANTOS, P., GARCIA, M. V., COPETTI, M.V., VALDUGA, E., CANSIAN R. L., ZENI, J., BACKES, G. T. Enzymatic biocontrol of spoilage fungi from salami. **LWT**. v.115, 109781, n.p., 2019.

CHAVES, J.B.P. **Controle de qualidade para a indústria de alimentos: princípios gerais**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1980. 18p. [Apostila].

CHOULIARA, I. SAMELIS, J.; KAKOURI, A.; BADEKA, A.; SAVVAIDIS, I.N.; RIGANAKOS, K.; KONTOMINAS, M.G. Effect of irradiation of frozen meat/fat trimmings on microbiological and physicochemical quality attributes of dry fermented sausages. **Meat Science**, v. 74, p. 303–311, 2006.

COLEN, G. **Isolamento e seleção de fungos filamentosos produtores de lipases**. 2006. 206 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.

DELGADO, J., NUNEZ, F., ASENSIO M. A., OWENS R. A. Quantitative proteomic profiling of ochratoxin A repression in *Penicillium nordicum* by protective cultures. **International Journal of Food Microbiology**. v. 305, n.p., 2019.

DELVES-BROUGHTON J, THOMAS LV & WILLIAMS G. Natamycin as an antimycotic preservative on cheese and fermented sausages. **Food Aust**, v. 58, p. 19–21, 2006.

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

DIJKSTERHUIS, J & SAMSON, R A. A multifaceted Approach to Fungi and Food. **CRC Press Food Mycology**. p. 403, 2007.

DZIEZAK, J. D. Enzymes: catalyst for food processes. **Food Technology**, Chicago, v. 45, n. 1, p. 78-85, 1991.

FLEURI, E. F.; SATO, H. H. β -1,3glucanases e quitinas de aplicação na lise de leveduras e implementação de fungos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, p. 1224-1231, 2008.

FORSYTHE, S. **Microbiologia da Segurança Alimentar**. São Paulo: Ed. Artmed, 2002. 424p.

FREO, J.D.; REOLON, J. Qualidade dos produtos derivados de carne e leite, industrializados pelas agroindústrias de Frederico Westphalen, RS. São Paulo: **Revista Higiene Alimentar**, v. 21, n. 140, p. 53-60, abr., 2006.

GALLI, F. Os embutidos – como fabricá-los. **Revista Nacional da Carne**, n. 194, abr., p. 16- 28, 1993.

GIRAFFA, G. Studying the dynamics of microbial population during food fermentation. **FEMS Microbiology Reviews**. v.28, p.251-260, 2004.

GOHEL V.; SINGH A.; VIMAL M.; ASHWINI P.; CHHATPAR HS. Bioprospecting and antifungal potential of chitinolytic microorganisms. **African Journal of Biotechnology**. v. 5, p. 54-72, 2006.

GRAZIA, L.; ROMANO, P.; BAGNI, A.; ROGGIANI, D.; GUGLIELMI, G. The role of moulds in the ripening process of salami. **Food Microbiology**, n. 3, p. 19-25, 1986.

HARPER, B. A.BARBUT, S.,LIM, L-T. MARCONE, M.F. Microstrutural and textural investigation of various manufactured collagen sausage casings. **Food Research International**. v.49, p.494-500, 2012.

HOLLEY, R. A.; GILL, C. O. Usos da embalagem em atmosfera modificada para carnes e produtos cárneos. Palestra. **III Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Carnes**, 27 a 29 de setembro, 2005.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6 ed. Tradução: Eduardo César Tondo. Porto Alegre: Artmed, 712p, 2005.

JESSEN, B. *Starter culture* for meat fermentations. In CAMPBELL-PLAT, G.; COOK, P. E. **Fermented Meats**. London Blackie Academic Professional, p.130-159, 1995.

IACUMIN, L., CHIESA, L., BOSCOLO, D., MANZANO, M., CANTONI, C., ORLIC, S., COMI G. Moulds and ochratoxin A on surfaces of artisanal and industrial dry sausages. **Food Microbiology**, v. 26, p.65–70, 2009

IACUMIN, L., MILESI, S., PIRANI, S., COMI, G., CHIESA, L.M. Ochratoxigenic mold and ochratoxin A in fermented sausages from different areas in Northern Italy: occurrence, reduction or prevention with ozonated air. **Food Safety**, V.31, p. 538–545, 2011.

LEE, B. U. YERMAKOV, M., GRINSHPUN O S. A. Removal of fine and ultrafine particles from indoor air environments by the unipolar ion emission. **Atmospheric Environment**, v. 38, p. 4815-4823, 2004.

LIANG, J. L., ZHENG, S. H., YE, S. Y. Inactivation of Penicillium aerosol by atmospheric positive corona discharge processing. **Journal of Aerosol Science**, v. 54, p. 103-112, 2012.

LIMA, I. A. **Elaboração e Caracterização de salame de Cordeiro Santa Inês**. 2009. 76 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos)- Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2009.

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

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

MACEDO, R. E. F. **Utilização de culturas lácticas probióticas no processamento de produto cárneo fermentado**. 2005. 210f. Dissertação (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

MATOS, C. R. **Parahidroxifenilsalicilamida e natamicina no controle de fungos na superfície de salames tipo Milano**, 2009. 71p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.

MONFORT, J. M. Los productos carnicos crudos curados. In XVIII Congresso Brasileiro de Ciencia e Tecnologia de Alimentos, 2002. **Anais**. Porto Alegre, SBCTA, p. 94-3992, 2002.

MORATALLA M. L., BOSCH-FUSTE J., BOVER-CID S., AYMERICH T., VIDAL-CAROU M. C. Contribution of enterococci to the volatile profile of slightly-fermented sausages. **LWT- Food Science and Technology**, v 44, p.15-152, 2011.

MOTARJEMI, Y. Impact of a small scale fermentation technology on food safety in developing countries. **International Journal of Food Microbiology**, v. 75, p. 213-229, 2002.

NASSU, R.T. **Utilização da carne de caprino na fabricação de embutido fermentado, tipo salame**. 154f. Tese para Doutorado em Tecnologia de Alimentos - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 1999.

NOBILE, M. A C., INCORONATO A. L., PANZA O., SEVI A., MARINO R. New strategies for reducing the pork back-fat content in typical Italian salami. **Meat Science**. v.81, p 263-269, 2009.

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

OSTRY V., TOMAN J., GROSSE Y., MALIR F. Ácido ciclopiazônico: 50º aniversário de sua descoberta. **International Journal of Food Microbiology**. v. 23, p. 1-14, 2019. Tese para Doutorado em Tecnologia de Alimentos - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 1999.

PARUSSOLO, G. **Avaliação micológica ao longo do processamento de salames e influência da umidade relativa sobre a produção de ocratoxina A por *Aspergillus westerdijkiae***. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2018.

PEROMINGO, B., NUNEZ, F., RODRÍGUEZ, A., ALÍA, A., ANDRADE, M.J. Potential of yeasts isolated from dry-cured ham to control ochratoxin A production in meat models. **International Journal of Food Microbiology**. v.268, p.73-80, 2018.

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

RODRÍGUEZ, A., BERNÁLDEZ, V., RODRÍGUEZ, M., ANDRADE, M. J., NUNEZ, F., CÓRDOBA, J. J. Effect of selected protective cultures on ochratoxin A accumulation in dry-cured Iberian ham during its ripening process. **LWT- Food Science and Technology**. v.60, p. 923-928, 2015.

SANTA, O. R. D. **Avaliação da qualidade de salames artesanais e seleção de culturas starter para a produção de salame tipo italiano**. 2008. Tese para Doutorado em Tecnologia de Alimentos - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

SHIUE, A., HU S., TU, M. Particles removal by negative ionic air purifier in cleanroom. **Aerosol and Air Quality Research**. v.11, p.179-186, 2011.

SILVA, J. G.; SANTOS, L. A.; RUFINO L. R. A.; FIORINI J. E.; OLIVEIRA, N. M. S. Avaliação microbiológica de salames industrializados e artesanais comercializados na cidade de Alfenas-MG. **Revista Higiene Alimentar**. v.30, nº254/255, 2016.

TERRA, Alessandro B. de M. **Particularidades na fabricação do Salame**. São Paulo: Livraria Varela, 2004.

TERRA, N. N.; DE CARLI, E. M.; TELLES, M. M.; DREHMER, A. M. F.; QUADROS, C. P.; MALHEIROS, P. S.; WAGNER, R.; FRIES, L. L. M. **Antioxidante natural na melhoria da qualidade do salame tipo italiano**. In: 2º Simpósio em Ciência de Alimentos (2003: Florianópolis). Anais. Florianópolis: SBCTA, 2003.

TERRA, N. N.; FRIES, L. L. M.; TERRA, A. Fermentação cárnea – Princípios e inovações. **Revista Nacional da Carne**. 2002.

THOMAS, L. V.; DELVES-BROUGHTON J. Natamycin. **Research Advances in Food Science**. v. 2, p.1-10, 2003.

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

TURNER, N. W.; SUBRAHMANYAM, S.; PILETSKY, S. A. Analytical methods for determination of mycotoxins: A review. **Analytica Chimica Acta**. v.632 ,p.168– 180, 2009.

VARNAM, A.H.; SUTHERLAND, J.P. **Carne y Productos Cárnicos**, Tecnologia, Química y Microbiología. Zaragoza. Acribia, 1998.

VIEIRA, E.N.R.; MENDONÇA, R.C.S. Leveduras em embutidos fermentados: opção tecnológica. **Revista Nacional da Carne**, ed. 340, 2005.

VIEIRA, D. C. **Controle de mofos em salaminho e salame tipo italiano, através de desinfecção por natamicina, ultravioleta, ozônio e ionização do ar**.
Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.

WHITE, S.; MCINTYRE, M.; BERRY, D.R.; MCNEIL, B. The autolysis of industrial filamentous fungi. **Critical Reviews in Biotechnology**, v.22, n.1, p.1- 14, 2002.